Aus der Universitäts-Hautklinik Marburg/Lahn
ehem. Direktor: Prof. Dr. med. O. Braun-Falco

Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Griseofulvinempfindlichkeit und -resistenz der Dermatophyten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Helga Buch
aus Frankfurt/M.

Marburg 1969

Fotodruck: Erich Mauersberger, Marburg

Aus der Universitäts-Hautklinik Marburg/Lahn
ehem. Direktor: Prof. Dr. med. O. Braun-Falco

Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Griseofulvinempfindlichkeit und -resistenz der Dermatophyten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Helga Buch
aus Frankfurt/M.

Marburg 1969

Fotodruck: Erich Mauersberger, Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der
Universität Marburg am 13.2.1969
Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. med. W. Straub
Referent: Prof. Dr. med. O. Braun-Falco
Korreferent: Prof. Dr. med. R. Siegert

INHALTSÜBERSICHT

Literarischer Teil

Einleitung

1. Historischer Überblick über die Entwicklung des Griseofulvins und seine therapeutische Anwendung
   1.1. Die Entdeckung des Griseofulvins und des "curling factor".
   1.2. Die Identität zwischen Griseofulvin und "curling factor".
   1.3. Die Wirkung von Griseofulvin auf Pflanzen und pflanzenpathogene Pilze.
   1.4. Die erfolgreiche Griseofulvinanwendung im Tierexperiment.
   1.5. Die therapeutische Griseofulvinanwendung in der Humanmedizin.

2. Griseofulvin, seine Eigenschaften, sein Wirkungsspektrum
   2.1. Physikalische und chemische Eigenschaften des Griseofulvins.
   2.2. Zur Pharmakologie des Griseofulvins.
      2.2.1. Resorption und Blutspiegel des Griseofulvins.
      2.2.2. Griseofulvineinlagerung in das Keratin der Haare und des Deckepithels.
      2.2.3. Griseofulvintoxizität durch Mitosehemmung bei Pflanzen, Tieren und Menschen.
      2.2.4. Versuch therapeutischer Anwendung der leicht cytostatischen Wirkung des Griseofulvins.
      2.2.5. Griseofulvinwirkung auf Zellkulturen.
      2.2.6. Aufhebung der mitosehemmenden Wirkung durch Purinkörper

2.2.7. Nebenwirkungen bei der klinischen Therapie.
2.2.8. Nichtantibiotische therapeutische Griseofulvinanwendung.
2.2.9. Klinische Erfahrungen mit der Griseofulvinbehandlung von Dermatomykosen.
2.3. Die morphologischen Veränderungen durch Griseofulvineinwirkung in vitro (licht- und elektronenmikroskopische Beobachtungen).
2.4. Die chemische Wirkung des Griseofulvins auf die Wachstumszone an der Hyphenspitze.
2.5. Einfluß des Griseofulvins auf die Fermentsysteme und den Phosphathaushalt der Hyphomyceten.
2.6. Abbau des Griseofulvins durch Hyphomyceten.
2.7. Die differente Griseofulvinempfindlichkeit einzelner Dermatophyten.
2.8. Züchtung resistenter Dermatophytenstämme in vitro.
2.9. Entwicklung griseofulvinresistenter Stämme durch Tierpassagen.
2.10. Infektion von Tieren mit resistenten bzw. nichtresistenten Stämmen.
2.11. Griseofulvinresistente Dermatophytenstämme beim Menschen.

3. Eigene Untersuchungen: Material und Methodik
3.1. Material und Methodik der ersten Versuchsserie.
3.2. Material und Methodik der zweiten Versuchsserie.
3.3. Material und Methodik eines Züchtungsversuches griseofulvingewöhnter Dermatophyten.

4. Eigene Untersuchungen: Versuchsergebnisse
4.1. Mikromorphologische Veränderungen der Mycelien durch verschiedene Griseofulvinkonzentrationen nach unterschiedlicher Einwirkungsdauer.
4.2. Mikromorphologische Veränderungen hervorgerufen durch Dimethylformamid.
4.3. Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration bei strichförmiger Beimpfung des Nährbodens.

4.4. Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration bei punktförmiger Beimpfung des Nährbodens.
4.5. Die Griseofulvinempfindlichkeit von 70 Trichophyton rubrum- und 20 Trichophyton mentagrophytes-Stämmen.
4.6. Versuch der experimentellen Erzeugung griseofulvingewöhnter bzw. griseofulvinresistenter Stämme.

5. Diskussion der Ergebnisse

6. Zusammenfassung

7. Literaturangaben

Einleitung

Mit der Einführung des Griseofulvins in die Behandlung der Dermatomykosen ergab sich theoretisch das von anderen, antibakteriellen Antibiotica bekannte Problem der Entwicklung resistenter Erreger. Denn schon bald traten neben den häufigen und guten Heilungserfolgen immer wieder Versager auf, die als Ursache eine Resistenzentwicklung der Dermatophyten gegen Griseofulvin vermuten liessen. Auch heute, nachdem das Griseofulvin bereits über 8 Jahre in der Humanmedizin Verwendung findet, sind jedoch sicher resistent gewordene Dermatophytenstämme praktisch kaum isoliert worden. Damit ist aber nicht ausgeschlossen, dass in Zukunft doch eine derartige Resistenzentwicklung häufiger zu beobachten sein wird.

Die vorliegende Arbeit dient dem Zweck,

1. die natürliche primäre Griseofulvinempfindlichkeit verschiedener, zum Teil noch nicht daraufhin untersuchter Arten vergleichend festzustellen,
2. an Hand eines grösseren Kollektivs von verschiedenen, frisch isolierten Stämmen zweier Dermatophytenarten zu überprüfen, wie weit innerhalb einer Art Unterschiede zwischen individuellen Stämmen bezüglich ihrer Griseofulvinempfindlichkeit bestehen,
3. das Verhalten der Griseofulvinempfindlichkeit einzelner Dermatophyten bei Züchtung über mehrere Passagen auf griseofulvinhaltigen Nährböden zu untersuchen.

1. Historischer Überblick über die Entwicklung des Griseofulvins und seine therapeutische Anwendung

1.1. Die Entdeckung des Griseofulvins und des "curling factor"

Schon 1939 wurde das seit 1959 im Handel befindliche Griseofulvin von OXFORD, RAISTRICK und SIMONART [120] bei Untersuchungen über die Biochemie von Mikroorganismen als Stoffwechselprodukt aus dem Schimmelpilz Penicillium griseofulvum DIERCKX isoliert. Sie beschrieben die physikalischen und chemischen Eigenschaften, die antibiotische Wirksamkeit erkannten sie noch nicht.

Unter dem Titel "A substance causing abnormal development of fungal hyphae produced by Penicillium janczewskii Zal." teilten BRIAN, CURTIS und HEMMING 1946 [27] mit, dass ein Stoffwechselprodukt von Peniçillium janczewskii Zal. die Hyphen von Botrytis allii (Grauschimmelfäule der Zwiebeln) lockenartig verdrehe und deshalb "curling factor" genannt werde. Eine weitere Beobachtung war, dass es im Zusammenhang mit steigenden Konzentrationen dieses "curling factor" im Nährboden zu intensiveren morphologischen Veränderungen kam, angefangen bei dem wellenförmigen Wachstum über enorme Verzweigung und Verdickung bis hin zur völligen Verstümmelung der Hyphen.

1.2. Die Identität zwischen Griseofulvin und dem "curling factor"

Nachdem MC GOWAN 1946 [107] die chemischen und physikalischen Eigenschaften des "curling factor" beschrieben

hatte, war es kein weiter Weg mehr, die Identität des Griseofulvins mit dem "curling factor" nachzuweisen (78). Obwohl dieses Griseofulvin eine bekannte Substanz war, wusste man noch nichts über seine Wirkung auf das Wachstum der Hyphen.

Im Jahre 1949 untersuchte BRIAN [26] die biologische Aktivität von Griseofulvin. Ausser dem von der Untersuchung des "curling factor" her bekannten Pilz Botrytis allii verwendete BRIAN [26] verschiedene Ascomyceten, Basidiomyceten und Fungi imperfecti für seine Versuche. Dabei entdeckte er, dass das Griseofulvin die gleichen morphogenetischen Veränderungen der Pilzhyphen bewirkt wie der "curling factor", nämlich Verdrehung, Lockenform, exzessive Verzweigung und Verdickung. Der Schweregrad der Veränderungen stand in einem direkten Verhältnis zur Griseofulvinkonzentration. Konzentrationen von 0,2 - 0,1 µg/ml bewirkten einen "curling effect", bei 1 µg/ml waren die Hyphen in Form von Verzweigungen mit stark verkürzten Zwischenstücken, abnorm dicken Hyphen, ungewöhnlichen Anschwellungen und Verdrehungen verändert, 10 - 20 µg/ml führten zu Verstümmelungen, die Hyphen waren stark mißgebildet, nichts erinnerte an die Morphologie einer normalen Hyphe.

Trotz der intensiven morphologischen Veränderungen bei 10 - 20 µg/ml war das Auskeimen der Conidien von Botrytis allii sogar bei Konzentrationen zwischen 50 - 100 µg/ml nicht gehemmt. Nach Weiterverimpfung auf griseofulvinfreie Nährböden traten diese tiefgreifenden Störungen der Pilzstrukturen nicht mehr auf, es entwickelten sich normale Formen.

BRIAN [20] wies darauf hin, dass die Ansprechbarkeit der Pilze auf Griseofulvin im wesentlichen von dem chemischen Bau der Zellwand abhängig ist. Abgesehen von einigen Ausnahmen besitzen alle griseofulvinempfindlichen

Pilze eine Chitinzellwand, während die meisten nicht reagierenden Zellulosewände haben.

1949 bestätigen BRIAN, CURTIS und HEMMING [28] die biologische Identität von Griseofulvin und dem "curling factor".

1.3. Die Wirkung von Griseofulvin auf Pflanzen und pflanzenpathogene Pilze

1951 - 1952 gelang es GROVE, ISMAY, MC MILLAN, MULLHOLLAND und ROGERS [77], die chemische Struktur zu bestimmen. Kurz darauf beschrieben BRIAN, WRIGHT, STUBBS und WAY [30] die Griseofulvinwirkung auf Pflanzen und pflanzenpathogene Pilze. Über die Wurzeln der jungen Pflanzen wurde das Griseofulvin aus der Nährflüssigkeit aufgenommen und führte nach vier Wochen bei einer Konzentration von 10 µg/ml Nährlösung zu einer Hemmung im Wurzelwachstum, während Sprösslinge, die in 50 µg/ml Griseofulvin wuchsen, eine Hemmung im Wurzel- und Längenwachstum zeigten.

Als Beweis dafür, dass das Griseofulvin aus der Nährflüssigkeit in den Kreislauf der Pflanzen aufgenommen wurde, diente die Tatsache, dass man sieben Tage nach dem Kontakt mit dem Griseofulvin in der Nährlösung (50 µg/ml) in den Konsendationstropfen der Blätter 0,1 - 1,0 µg/ml Griseofulvin nachweisen konnte. Für eine Art Speicherung des Griseofulvins in der Pflanze spricht, dass noch 3 - 4 Wochen nach der Aufhebung des Kontaktes mit der griseofulvinhaltigen Nährlösung Griseofulvin in den Kondensationstropfen der Blätter nachgewiesen werden konnte.

Griseofulvin ist für viele Pflanzen nicht giftig. Wie schon erwähnt, wird es von den Wurzeln der Pflanzen aufgenommen und als systemisches Antibioticum in den oberflächlichen Zellschichten verteilt.(160). Auf Grund

dieser fungistatischen Qualitäten versuchte man, das Griseofulvin zur systematischen Behandlung der phytopathogenen Pilze heranzuziehen. Die Versuche an Kopfsalatsetzlingen und Tomatenpflanzen (3o) waren auch sehr erfolgversprechend.

Im Rahmen dieser Versuchsserie wurden von NAPIER, TURNER und RHODES 1956 [117] weitere 4o pflanzenpathogene Pilze getestet. Ihre Empfindlichkeit auf Griseofulvin zeigte eine grosse Variationsbreite. Pilze, die selbst auf hohe Griseofulvinkonzentrationen nicht ansprachen, wurden auf den Chitingehalt der Zellwände untersucht (nach der Methode von van WISSELINGH [153]). Bei drei Pilzen (Elsinoe ampelina, Exobasidium vexans und Ustilago maydis) ergab sich, dass eine natürliche Griseofulvinresistenz vorlag, obwohl die Zellwände aus Chitin aufgebaut waren. BRIAN's [26] Ansicht, dass Griseofulvin spezifisch gegen Organismen mit Chitinzellwand gerichtet ist, musste nach diesen Ergebnissen revidiert werden (111).

Trotz aller ermutigenden Resultate zeigt Griseofulvin, was die Behandlung der Pilzerkrankungen anbetrifft, in praktischer Hinsicht nicht den zunächst vermuteten grossen Erfolg. Im allgemeinen ist es nicht wirkungsvoller als die schon im Handel befindlichen Antimykotica. Einer der wenigen Fälle, wo Griseofulvin besser wirkt, ist die braune Fäulnis der Äpfel, die durch Sklerotinia fructigena verursacht wird (24).

1953 fanden JEFFERYS, BRIAN, HEMMING und LOWE [88] in anderen Penicilliumarten, nämlich in Penicillium nigricans und Penicillium urticae und etwas später im Jahre 1955 BRIAN, CURTIS und HEMMING [29] im Penicillium raistrickii ebenfalls Griseofulvin.

1.4. Die erfolgreiche Griseofulvinanwendung im Tierexperiment

Nachdem in den Jahren 1949 - 1956 viel Mühe darauf

verwendet wurde, die verschiedenen pflanzenpathogenen Pilze zu untersuchen, begann man um 1958 mit der Prüfung des Griseofulvins am Versuchstier.

1958 berichtete GENTLES [64] als erster über experimentelle Untersuchungen am Meerschweinchen, die zuvor mit Microsporum canis oder Trichophyton mentagrophytes infiziert worden waren. Durch orale Behandlung mit 6o mg/kg Körpergewicht wurde das Fortschreiten der Pilzerkrankung gestoppt und die sonst hochgradige entzündliche Reaktion verhindert. Die Behandlung begann lo Tage nach der Infektionssetzung, zu einem Zeitpunkt, als sich deutlich entzündliche und unter dem Woodlicht fluoreszierende Herde entwickelt hatten. Ein merklicher therapeutischer Effekt war bereits nach einer viertägigen Behandlung der Meerschweinchen festzustellen. Nach 8 Tagen waren nahezu alle Haarfollikel pilzfrei.

Im gleichen Jahr zeigten LAUDER und O'SULLIVAN [1o2] in Verbindung mit GENTLES [64], dass oral verabreichtes Griseofulvin das Angehen der experimentellen Trichophytie beim Kalb verhindern konnte. Die gute therapeutische Wirkung von Griseofulvin bei experimentellen Trichophyton- und Microsporuminfektionen bei Meerschweinchen und Katzen konnte auch von MARTIN [1o5], GELEICK und FREY [59], KAPLAN und AJELLO [92] festgestellt werden.

GENTLES [64] konnte weiterhin beobachten, dass die infizierten Haare griseofulvinbehandelter Meerschweinchen unter Woodlicht nur an den Spitzen die charakteristische Fluoreszenz zeigten. Bei mikroskopischen Untersuchungen waren die Dermatophyten nur im oberen Teil des Haarschaftes vorhanden. Der untere Teil war frei von Pilzen, und zwar jener Teil, der unter der Griseofulvinbehandlung nachgewachsen war. Diese Befunde wurden von FREY und GELEICK [59] bestätigt.

1.5. Die therapeutische Griseofulvinanwendung in der Humanmedizin

Nach den ausgezeichneten Heilungsergebnissen im Tierversuch war es kein weiter Weg, Griseofulvin auch in der Humanmedizin anzuwenden. Im Sommer 1958 wurde RIEHL [129] von der englischen Firma Glaxo Laboratories Ltd. dazu aufgefordert, das Griseofulvin in der Humanmedizin auszuprobieren. Über die ersten Behandlungsergebnisse berichtet er in einer Sitzung der oesterreichischen Dermatologischen Gesellschaft am 27.11.1958.

Nach dem Bericht RIEHL's waren die Mykosen der behaarten und nichtbehaarten Haut innerhalb weniger Tage abgeheilt und mikroskopisch erscheinungsfrei. Die Dosis bestand in Gaben von anfänglich 2 - 3 g/die, nach ein bis zwei Wochen wurde sie auf 1 g/die verringert und noch etwa zwei Wochen beibehalten. Eine laufende Überprüfung des Blutbildes, der Leberfunktionen, des Harnstoffs im Serum und der Blutsenkungsgeschwindigkeit zeigte keine pathologischen Veränderungen. Weitere günstige Berichte folgten noch im gleichen Jahr aus England durch WILLIAMS, MARTEN und SARKANY [159], aus den USA durch BLANK und ROTH [20] und durch LATAPI [101] aus Mexiko. WILLIAMS, MARTEN und SARKANY [159] berichteten am 6.12.1958 über die ersten Behandlungsergebnisse bei 9 Patienten mit Trichophyton-rubrum-Infektionen der Haut und Nägel. Eine rasche klinische Besserung trat nach zweiwöchiger Behandlung mit 2 g Griseofulvin pro Tag ein. Die Handflächen erhielten wieder ihr normales Aussehen. Der Pilz liess sich schwer in Hautschuppen und Nagelresten nachweisen und fehlte schliesslich ganz. Auch wurde eine Fluoreszenzabnahme bei Tinea capitis durch Mikrosporum Audouinii wahrgenommen.

BLANK und ROTH [20] berichteten von ausgedehnten Trichophyton-rubrum-Infektionen, die unter der Therapie von 5 g Griseofulvin pro die vollständig abheilten. Aller-

dings beschrieben sie auch als erste geringgradige Nebenreaktionen, wie Kopfschmerzen und Urticaria. Patienten mit einer Überempfindlichkeit gegen Penicillin reagierten auf Griseofulvin normal. Zu Veränderungen im roten und weissen Blutbild kam es nicht.

ESTEVES und NEVES 1959 [50] konnten Fälle von Tinea capitis durch Trichophyton Schönleinii und Trichophyton violaceum nach vier- bis sechswöchiger Griseofulvintherapie fast ausnahmslos heilen. PETTKER und RIETH [123] begannen im Sommer 1959 mit der Behandlung von 12 durch Mikrosporum Audouinii erkrankten Kindern aus einem privaten Pflegeheim. Dabei verabreichten sie Griseofulvin in Tagesdosen von nur 2 x 1/2 bis 2 x 1 Tablette (= 0,25 - 0,5 g). Die Heilung trat nach 18 bis 40 Tagen ein.

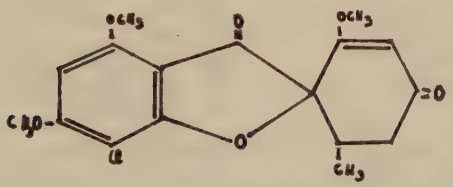
Nachdem 1959 das Griseofulvin in grossem Umfang in den Handel gebracht worden war, wuchs die Zahl der Publikationen in steigendem Maße. Überwiegend galten diese Arbeiten den Berichten über günstige Behandlungsergebnisse. Weitere Untersuchungen galten der Klärung chemischer und physikalischer Eigenheiten, der Erkennung von Nebenwirkungen und toxischen Reaktionen. Man versuchte, Griseofulvin bei anderen, nicht mykotischen Erkrankungen anzuwenden. Die eigentliche Wirkungsweise sowie das Schicksal des Griseofulvins im Organismus wurden intensiver untersucht. Nicht zuletzt machte man in Parallelität zu dem Resistenzproblem der Bakterien gegenüber Antibiotika Untersuchungen in vivo und vitro im Hinblick auf eine eventuelle Resistenzentwicklung der Dermatophyten gegenüber dem Antibiotikum Griseofulvin. Im folgenden sollen die bisher gewonnenen Erkenntnisse zur Pharmakologie des Griseofulvins im einzelnen dargestellt werden.

2. Griseofulvin, seine Eigenschaften, sein Wirkungsspektrum

2.1. Physikalische und chemische Eigenschaften des Griseofulvins

Griseofulvin ist ein weisses, geruchloses Pulver. Es ist thermostabil und verträgt vorübergehendes Erhitzen im Autoklaven über 2o Minuten. Der Schmelzpunkt liegt bei 218 bis 221 Grad C. Das Molekulargewicht beträgt 3o9 bis 398 (12o, 1o7). Die Absorptionsmaxima liegen bei 286 und 325 µm (77). Ein hoher Reinheitsgrad wird durch Sublimation erreicht. Löslichkeit: 12 bis 14 % bei Zimmertemperatur in NN'-Dimethylformamid, schwerlöslich in Chloroform, Äthylacetat, Toloul und Ligroin. Die Wasserlöslichkeit ist gering und beträgt für normales Griseofulvin 4o µg/ml (12o, 1o7, 13o, 67), für Griseofulvin M (Likuden M der Firma Hoechst) 12o µg/ml (persönliche Mitteilung der Firma Hoechst). Griseofulvin ist ferner löslich in Eisessig, Benzol, Äther, Äthylalkohol und Dioxan (13o). Die Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln differiert zwischen 1 und 12 %.

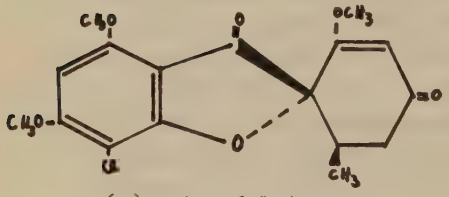
Nachdem die Summenformel $C_{17}H_{17}O_6Cl$ von OXFORD, RAISTRICK und SIMONART [12o] schon 1939 erwähnt wurde, konnten GROVE, ISMAY, MC MILLAN, MULLHOLLAND und ROGERS 1951 [77] und GROVE und Mitarbeiter 1952 [76] die chemische Struktur bestimmen. Die Strukturformel ist folgende:



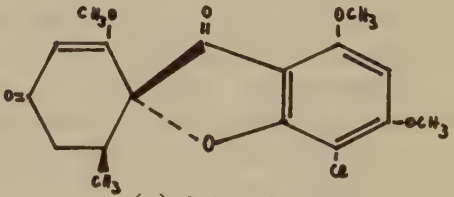
Griseofulvin besitzt weder eine Hydroxyl- noch eine Carbonylgruppe. Es ist stark rechtsdrehend, sein Schmelzpunkt liegt zwischen 218 und 22o Grad C. Mit der Griseofulvin-Totalsynthese von BROSSI und Mitarbeiter [31] und

und KYBURZ, GELEICK, FREY und BROSSI 1960 [98] eröffnete sich die Möglichkeit, die antimykotische Aktivität von natürlichem und synthetischem Griseofulvin zu vergleichen und die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Wirksamkeit kennenzulernen. Man machte Versuche mit dem natürlichen (+) Griseofulvin, dem synthetisch gut zugänglichen epi-Griseofulvin, dem Racemat eines Diastereomeren von (+) Griseofulvin und zweitens dem ebenfalls synthetisch gewonnenen racemischen Griseofulvin, das aus gleichen Anteilen des natürlichen (+) drehenden und des unnatürlich (-) drehenden Antipoden zusammengesetzt ist.

racemisches Griseofulvin

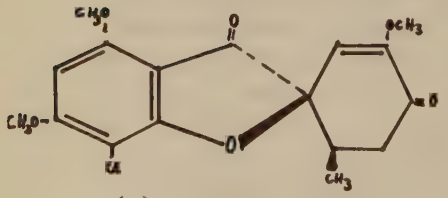


(+) Griseofulvin
natürliches Antibioticum

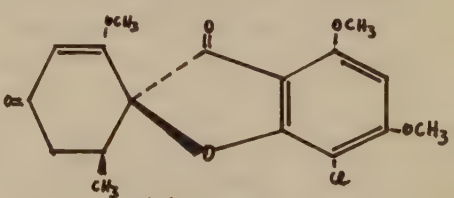


(-) Griseofulvin

racemisches epi-Griseofulvin



(+) epi-Griseofulvin

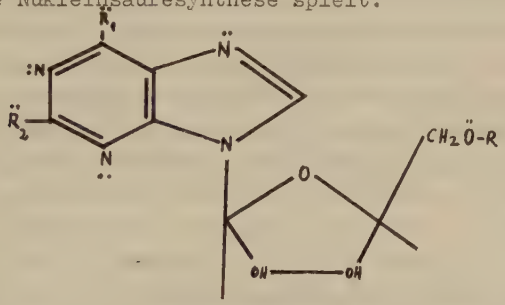


(-) epi-Griseofulvin

In Versuchen in vitro und am Meerschweinchen zeigte synthetisches, racemisches epi-Griseofulvin keine antimykotische Aktivität, während synthetisches, racemisches Griseofulvin gleich stark wirkte wie das natürliche (+) Griseofulvin. Auf Grund dieser Befunde ist die Griseofulvinwirkung hinsichtlich der Stereochemie struktur-

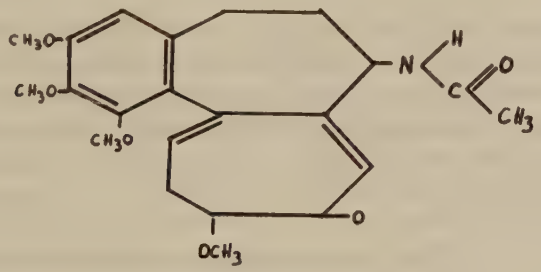
spezifisch, aber nicht hinsichtlich der optischen Konfiguration (58).

Die teilweise Aufhebung der Wachstumshemmung durch Purine und ihre Derivate liess MC NALL [111] vermuten, dass hier eine eventuelle Strukturähnlichkeit bestehe. Tatsächlich stellte er fest, dass sich die intramolekularen Entfernungen sehr ähnlich sind. Die ersten beiden Ringe des Griseofulvins erinnern in vielen strukturellen Formen an die beiden Ringe der Purinmoleküle. Diese strukturelle Ähnlichkeit lässt vermuten, dass Griseofulvin eine Rolle als kompetitives Analogon für die Nukleinsäuresynthese spielt.



Purin-Ribosid

Auch das Colchizin ist dem Griseofulvin ähnlich, und zwar sowohl in seiner chemischen Struktur, als auch in seiner Wirkung auf die Zellteilung (125).



Colchizin

2.2. Zur Pharmakologie des Griseofulvins

2.2.1. Resorption und Blutspiegel des Griseofulvins

Die Resorption des Griseofulvins im Magendarm-Trakt im Rahmen passiver Diffusion ist begrenzt. Eine einfache Erhöhung der Griseofulvindosis bewirkt keine Steigerung des Blutspiegels (41). Die Resorption ist am besten im Duodenum und nimmt in folgender Reihenfolge ab: Jejunum, Ileum, Magen, Rektum, im Colon findet keine Resorption statt (12). CROUNSE [40] konnte 1961 feststellen, dass die Serumwerte, die einer grossen Fettmahlzeit folgen, fast doppelt so hoch sind wie die Werte bei Hungerzustand. ETTIG 1963 [51] empfiehlt daher, Griseofulvin gekoppelt mit fettreicher Kost einzunehmen, und die Dosis auf die Hälfte der sonst gegebenen zu reduzieren. Im Tierversuch liess sich feststellen, dass eine intravenöse Fettemulsion, parallel zur oralen Griseofulvineinnahme gegeben, keinen Einfluss auf die Griseofulvinwerte hat. Die höheren Serumwerte, die einer fettreichen Mahlzeit folgen, sind somit eine Folge einer vermehrten Resorption und nicht einer verminderten Clearancerate des fettigen Serums. Schon GRECO, MOSS und FOLEY [72] konnten 1959 bessere Heilungstendenzen bei mit Trichophyton mentagrophytes infizierten Meerschweinchen nach oralen Gaben von Griseofulvin-Ölsuspensionen sehen.

Weitere, sehr sorgfältige Untersuchungen sind über die Verteilungs- und Eliminationsbedingungen des Griseofulvins durchgeführt worden. Diese Ergebnisse sind klinisch insofern von Bedeutung, als sich daraus wichtige Hinweise für Dosis und zeitliche Applikationsweise bei der Therapie ergeben.

Das Griseofulvin verteilt sich gleichmäßig in den Geweben. Nach intravenöser Injektion erfolgt eine An-

reicherung in der Haut und in der Lunge (12). Nach oraler Gabe in der Leber, Haut, den Skelettmuskeln und im Fettgewebe (133). Die Bedeutung der hohen Anreicherung des Griseofulvins in der Lunge ist noch unklar. In der Galle und Cerebrospinalflüssigkeit konnte kein Griseofulvin gefunden werden (12).

An Hand von Tierversuchen konnten VANBREUSEGHEM und ROSENTHAL 1962 [133] feststellen, dass Griseofulvin die Placentarschranke nicht durchdringt. Untersuchungen von MC NALL 196o [11o, 111], mittels Tritium-markierten Griseofulvins zeigen, dass etwa sechs Stunden nach oraler Aufnahme ein maximaler Blutspiegel erreicht wird, dessen Höhe allerdings nicht proportional der applizierten Dosis zunimmt, sondern mit steigender Dosis relativ weniger ansteigt. Von der 1o. bis zur 24. Stunde nach der Applikation und später findet sich ein konstanter, nur sehr langsam abfallender Dauerblutspiegel, dessen Höhe in ausgesprochenem Maße proportional der zugeführten Dosis ist.

Dieser wichtige Befund eines langanhaltenden Griseofulvinspiegels (über 24 Stunden) konnte mittels einer spektrofluorometrischen Griseofulvinbestimmungsmethode (13) 196o von BUSFIELD, CHILD, BASIL und TOMICH [35] bestätigt werden.

Letztere Autoren stellten ferner fest, dass, den Griseofulvinspiegel im Blut betreffend, keine Geschlechtsunterschiede bestehen. Nur bei Ratten konnte eine geschlechtsgebundene Differenz in Bezug auf den Griseofulvinspiegel im Serum festgestellt werden. Und zwar war nach der gleichen oralen, intravenösen, subcutanen und intraperitonealen Gabe die Serumkonzentration bei der weiblichen Ratte höher als bei der männlichen. In vitro-Studien haben gezeigt, dass Leberteilchen der männlichen Ratte das Griseofulvin viel schneller abbauen

als weibliche. Parallele Studien bei Meerschweinchen und Menschen ergaben keine geschlechtsgebundenen Unterschiede im Griseofulvinabbau (84).

Die Konzentration von Griseofulvin ist im Vollblut doppelt so hoch wie im Serum, dies kann dem hohen Lipoidgehalt der Erythrozytenzellwand und der bekannten Lipoidlöslichkeit von Griseofulvin zugeschrieben werden (147). Eine Ausscheidung von Griseofulvin im Urin findet nur in völlig unbedeutendem Maße (geringer als 1%) statt (72, 133). Das Griseofulvin, das nach oraler Einnahme im Urin gefunden wird, ist allerdings verändert, und zwar findet man hauptsächlich das Abbauprodukt 6-Demethylgriseofulvin (11).

Eine weitere Beobachtung von BUSFIELD und Mitarbeiter 1963 [33] war, dass der Serumgriseofulvinspiegel unter Phenobarbital (Luminal R), das einige Tage genommen wurde, auffallend abnahm.

Auch nach intravenöser Griseofulvininjektion, die von BUSFIELD, CHILD und TOMICH 1964 [34] an Ratten vorgenommen wurde, sank der Griseofulvinspiegel nach Phenobarbitaleinnahme. Somit war bewiesen, dass das Phenobarbital die Resorption des Griseofulvins im Magendarm-Trakt nicht hemmend beeinflusst. Sie fanden auch, dass der Abbau von Griseofulvin in Leberstückchen von mit Phenobarbital behandelten Tieren schneller war, als bei unbehandelten Tieren.

ORRENIUS und Mitarbeiter 1965 [119] berichten ausführlich von der Wirkung des Phenobarbitals auf die Synthese von medikamentabbauenden Enzymsystemen in den Mikrosomen der Leber. Drei Tage vor Isolierung der Lebermikrosomen wurden Ratten mit Phenobarbital gefüttert. Bei der anschliessenden Untersuchung stellte man fest, dass es zu einer Vermehrung der Enzyme gekommen war, die die oxydative Demethylierung bewirken, also auch von TPNH-

Cytochrom c-Reduktase. Da Griseofulvin hauptsächlich durch Demethylierung abgebaut wird, scheint es auch erklärlich, dass die nach Phenobarbitalapplikation vermehrte Fähigkeit der Leber Medikamente zu demethylieren, für die erniedrigten Griseofulvin-Serumwerte verantwortlich zu machen ist.

Die wesentliche Elimination des Griseofulvins erfolgt offenbar in der Leber. Dies berichten BEDFORD und Mitarbeiter 1960 [12], die bei Bebrütung von Leberschnitten in griseofulvinhaltiger Nährlösung eine schnelle Abnahme der Griseofulvinkonzentration fanden, während es bei Gewebsschnitten von der Niere, der Milz und der Lunge zu keinen Abbaureaktionen kam.

2.2.2. Griseofulvineinlagerung in das Keratin der Haare und des Deckepithels

Von besonderer praktischer Bedeutung sind weiterhin die Bedingungen, unter denen das Griseofulvin in das Keratin der Haare und des Deckepithels eingelagert wird. Die Art und Weise, wie das Griseofulvin in das Keratin des Haares eindringt, wurde schon von GENTLES und Mitarbeiter 1959 [65] in den ersten Versuchen beobachtet. Sie stellten fest, dass die proximalen Haaranteile, die während der Griseofulvinbehandlung nachgewachsen waren, gegenüber den distalen sich als pilzfrei erwiesen. Durch besondere Nachweismethoden konnten dies sowohl HEITE und JANKE 1959 [81] als auch GENTLES, BARNES und FANTES 1959 [65] bestätigen. Letztere fanden, dass in einem Gramm Haar etwa 5 bis 6 µg Griseofulvin enthalten sein können. Das entspricht einer Konzentration, die deutlich oberhalb der Grenzkonzentration liegt, die bei in vitro Versuchen eine völlige Wachstumshemmung von Trichophyton-Stämmen hervorruft. Sie stellten weiterhin fest, dass 50 % des in den Haaren enthaltenen Griseofulvins wasserlöslich

und weitere 5o % durch Methanol extrahierbar sind. Ersterer Anteil ist offenbar derjenige, der aussen an der Haarschaftoberfläche anhaftet, der zweite ist in die Hornschicht eingelagert. Dass ein Teil des im Keratin vorhandenen Griseofulvins in wasserlöslicher Form vorliegt, und auswaschbar ist, hat insofern praktische Bedeutung, als Wirkungsverluste des Griseofulvins im Sinne eines Waschef fektes auftreten können. Das gilt auch für das Keratin des noch zu besprechenden Deckepithels. Auf diese Weise wird nämlich verständlich, dass besonders bei feuchter Haut durch Hyperhidrosis und einer auf diesem Boden vorhandenen Epidermophytie die therapeutische Wirkung des Griseofulvins besonders unzuverlässig ist (8o, 81).

Auch JOLLY, HAILEY und NETICK 1961 [89] stellen die Frage zur Diskussion, ob durch vermehrtes Waschen der Haut das Griseofulvin ausgewaschen werden und somit in seiner therapeutischen Wirkung reduziert werden könne. Ausserdem stellten sie fest, dass es unter der Griseofulvintherapie zu einer Steigerung des pH-Wertes von 5,86o vor der Behandlung auf 6,1oo nach der Behandlung kam.

FREY und GELEICK [59] halten es für weniger wahrscheinlich, dass das Griseofulvin durch die Epidermis ausgeschieden wird, um von aussen auf das Haar zu gelangen. Die Tatsache, dass in Haaren unbehandelter Tiere intracorticale Hyphen bis o,o3 mm über die keratogene Zone einwachsen, bei behandelten jedoch 4 - 11 mm über dieser Zone stehenbleiben, berechtigt zu der Vermutung, dass Griseofulvin in die Zellen des Haarschaftes eindringt, wodurch die intracorticalen Hyphen nicht weiter proximal wachsen können und durch das distale Wachstum des Haares immer mehr zur Peripherie gedrängt werden (59).

Das Eindringen des Griseofulvins in das Keratin

des Deckepithels wurde in beachtenswerten Versuchen von ROTH jr. und BLANK 1960[139] nachgewiesen. Sie untersuchten beim Menschen den Zeitpunkt des ersten Erscheinens von Griseofulvin in der untersten Schicht des Stratum corneum und den anschliessenden Transport zur Hautoberfläche. Nach schichtweisem Abreissen der oberen Hautschichten (Strippingmethode) wurden Makrokonidien von Mikrosporum gypseum auf die jeweilige Oberfläche verbracht und die Anwesenheit von Griseofulvin in dieser Schicht durch eine Wachstumshemmung nachgewiesen. Bereits 48 bis 72 Stunden nach der Griseofulvinaufnahme lässt sich in der untersten Hornschichtlage in der Höhe des Stratum lucidum ein Griseofulvineffekt nachweisen. Das weitere Durchdringen der Hornschicht benötigt erhebliche Zeit. Um nur 25 % der gesamten Hornschicht von unten her zu durchdringen, werden 7 bis 12 Tage benötigt. Nach 12 bis 19 Tagen ist erst die halbe Hornschicht von Griseofulvin durchdrungen. An der Oberfläche dagegen ist auch nach 18 bis 56 Tagen die Wirkung unsicher.

Aus diesen Untersuchungen ist für die praktische Therapie der Schluss zu ziehen, dass Griseofulvin bei Erkrankungen der Haare wesentlich bessere Wirkungsbedingungen findet, als bei Erkrankungen des Deckepithels. In der Tat hat die klinische Erfahrung bestätigt, dass das Griseofulvin bei Pilzerkrankungen der Haare (Mikrosporie, Favus und follikuläre Trichophytie) die eindrucksvollsten klinischen Erfolge zeitigt. Bei den Epidermophytien hingegen sind die Vorbedingungen für eine Griseofulvinwirksamkeit wesentlich schlechter. Folgerichtig wäre also, die Pilzerkrankungen des Deckepithels nicht allein mit Griseofulvin zu behandeln; denn dieses ist dort am schwächsten wirksam, wo die lokale Therapie am besten wirksam ist. Umgekehrt ist das Griseofulvin in der Tiefe der Hornschicht unmittelbar über dem Stratum lucidum am besten wirksam, also gerade dort, wo die

lokale Therapie am schlechtesten hinkommt (8o).

2.2.3. Griseofulvin-Toxizität durch Mitosehemmung bei Pflanzen, Tieren und Menschen

Toxische Reaktionen nach Griseofulvingaben wurden sowohl beim Menschen als auch im Tier- und Pflanzenreich bei allen schnell proliferierenden Geweben beobachtet. Griseofulvin erwies sich in allen beschriebenen Fällen als ein ausgesprochenes Mitosegift, das eine Aretierung der Mitosen in der Metaphase, ähnlich dem Colchizin, bewirkt (121).

HEYMER [82] konnte, angeregt durch die Versuche von PAGET und WALPOLE [121] an Ratten, an Hand ihrer Versuche mit der Vicia faba (Pferdebohne) eine Beziehung zwischen der Griseofulvinkonzentration und der Anzahl oder dem Grad der Mitosestörungen bei jungen Geweben feststellen. Mit der Abnahme der Griseofulvinkonzentration wurde die Zahl der gestörten Mitosen geringer, um schliesslich ganz zu verschwinden. Auch in der Intensität des Chromosomenschadens lagen graduelle Unterschiede in der Abhängigkeit von der Verdünnung vor. HEYMER [82] hat grundsätzlich in diesen Versuchen die Mitosen im Stadium der Anaphase untersucht und dabei den Eindruck gewonnen, dass nicht immer die Spindel, sondern auch die Chromosomensubstanz geschädigt wird, wobei es zu Verklebungen und Brückenbildungen kommt. In schwächeren Konzentrationen fand sie häufig tripolare Mitosen. Die verwendeten Griseofulvinkonzentrationen lagen zum Teil im Bereich der therapeutischen Dosis, die beim Menschen empfohlen wird.

Hierzu muss man allerdings bemerken, dass Vicia faba, ähnlich wie der zu schädigende Pilz, ein pflanzlicher Organismus ist. Die gewonnenen Ergebnisse lassen sich daher nicht unmittelbar auf das Verhalten tierischer

Zellen übertragen.

Im Bereich der Tierversuche stellten PAGET und WALPOLE 1958 [121] als erste eine mitosehemmende Wirkung des Griseofulvins fest. Sie beobachteten bei einmaliger intravenöser Verabreichung von 100 mg/kg Körpergewicht (mittlere letale Dosis 400 mg/kg Körpergewicht) nach sechs Stunden im Knochenmark, in den Testes und auch in Transplantationstumoren eine starke Hemmung in der Metaphase. Die Chromosomen lagen ungeordnet im Cytoplasma. Die betroffenen Gewebe erholten sich meist innerhalb von 24 Stunden. Es trat keine wesentliche Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens ein. Nur die Spermiogenesestörungen waren bei Ratten noch mindestens 10 Tage lang erkennbar. SCHWARZ und LOUTZENHISER 1960 [144] beobachteten diese Veränderungen bei Ratten und Mäusen erst bei einer Tagesdosis von 1 g/kg Körpergewicht und darüber. Bei jungen Mäusen kam es ausserdem noch vom äusseren Aspekt her zu einer starken Wachstumshemmung. Kleine Mengen (10 bis 66 mg/die) stützten dagegen nicht nur die normale Entwicklung, sondern bewirkten eine Steigerung des Gewichtes in den ersten 10 Tagen. Die Ursache dafür ist unbekannt.

Bei den eben genannten Versuchen war das Griseofulvin intravenös appliziert worden. Es zeigte eine toxische Wirkung auf das Knochenmark, den Magendarmtrakt und die Spermiogenese.

Anders sind die Ergebnisse im Tierversuch bei oraler Zufuhr auch höherer Griseofulvindosen oder bei Gaben, die der menschlichen therapeutischen Dosis entsprechen. SCHIRREN 1962 [143] verabreichte Ratten mittels einer Schlundsonde eine Suspension von 1,5 mg/100 g Körpergewicht pro die. Nach drei Tagen kam es zu allgemeinen Erscheinungen wie Unruhe, Appetitlosigkeit und Durchfällen, die sich aber im Verlauf der ersten Woche wieder zurück-

bildeten. Man fand keinen Anhalt für eine hemmende Wirkung des Griseofulvins auf die Spermiogenese der Ratte. Die Dosierung von 1,5 mg/loo g Körpergewicht entspricht in etwa der für den Menschen zur Zeit üblichen Dosis von looo mg/6o kg Körpergewicht. Auch die hohen, oral angewendeten Dosen von 5o bis 6oo mg/kg Körpergewicht über ein Jahr hindurch, täglich appliziert, konnten bei Ratten keine toxischen Nebenwirkungen erzeugen (128).

Aus Berichten der letzten beiden Jahre ist auch eine gewisse Griseofulvinbeeinflussung der Leber und des Porphyrinstoffwechsels zu entnehmen. Übereinstimmend mit BARICH und Mitarbeiter 1964 [8] fütterte auch BLANK 1965 [19] Mäuse mit grossen Mengen Griseofulvins und erzeugte damit eine Hepatomegalie und Hepatitis, die aber, wenn man das Medikament absetzte, reversibel waren. Die gleichen Beobachtungen machte auch WESTON-HURST 1963 [158]. Ausserdem stellten sie fest, dass enorme Mengen von Protoporphyrin in den Leberzellen abgelagert waren, und dass es zur Bildung einer biliären Lebercirrhose und gelegentlich zu Lebertumoren bei Mäusen kam, die mehr als die hundertfache therapeutische Dosis des Menschen bekamen.

Unbekannt ist, warum diese Erscheinungen nur bei Mäusen und nicht auch bei Meerschweinchen, Ratten und Kaninchen auftreten.

DE MATTEIS und REMINGTON 1963 [44] studierten den gestörten Porphyrinstoffwechsel bei Mäusen, die grosse Mengen Griseofulvins bekamen, und sie bemerkten, dass das fäkale Protoporphyrin und Koproporphyrin vermehrt waren, dass es zur Porphyrinansammlung in der Leber, zur Fluoreszenz im Knochenmark und zu einer Vermehrung der δ-Aminolaevulinsäure im Urin gekommen war. Diese Veränderungen bestanden nur parallel zur Griseofulvineinnahme und bildeten sich nach dem Absetzen wieder zurück.

Die gleichen Autoren beschrieben auch eine vermehrte Porphyrinsynthese in vitro und eine vermehrte Fe [59] Aufnahme in vivo. Die Lebenszeit der Erythrozyten bei den porphyriekranken Tieren war normal, im haematologischen Bilde wurden keine pathologischen Veränderungen gefunden. So vermuteten die Autoren, dass eine abnormale Porphyrinsynthese in der Leber stattfindet. Ein Teil trat in das Blut über und von dort in die Gallenpigmente.

GRANIK [71] berichtet ausser dem Griseofulvin von weiteren Medikamenten, die im Tierversuch eine akute Porphyrie bewirken können, und durch die man in vitro eine Vermehrung der δ-Aminolaevulinsäure-Synthetase in Leberparenchymzellen induzieren kann. Hierzu gehören noch 3,5 Dicarbäthoxy-1,4 dihydro collidine und Diallylbarbitursäure.

Diese tierexperimentellen Befunde hatten sehr sorgfältige Toxizitätsprüfungen therapeutischer Dosen beim Menschen ausgelöst. LIVINGOOD und Mitarbeiter 1960 [103] untersuchten bei 41 Patienten, die täglich 4 mal 250 mg Griseofulvin 10 Wochen bis 7 Monate lang erhalten hatten, das Blutbild, den Urin und die Nierenfunktion. Ausserdem wurden Leberfunktionstests und bei 12 Patienten Knochenmarkspunktionen vorgenommen. Hierbei liess sich keine eindrucksvolle oder gar signifikante Wirkung auf die Leber, das hämopoetische System oder die Niere feststellen. Ebenso teilte auch RIEHL 1959 [129] mit, dass toxische Nebenwirkungen in Form von Veränderungen des Blutbildes, der Leberfunktion, der Harnstoffreaktion, des Blutzuckerspiegels und der Nierenfunktion nicht beobachtet wurden. Dem gegenüber fanden MC CUISTION, LAWLIS und GONZALEZ 1960 [106] bei 64 % der Patienten einen Leukozytenabfall um mehr als 10 %, bei 21 % um mehr als 20 %. Insgesamt zeigten also 85 % der Patienten einen leichten Leukozytenabfall. ROBINSON und Mit-

arbeiter 1960 [133] sahen bei 12 von 52 Patienten einen geringen Leukozytenabsturz um etwa 1500. Auch MEARA 1960 [112] erwähnt Leukozytenabfälle bei zwei Kindern, und zwar von 4350 auf 650 pro mm^3 und von 3250 auf 1400 pro mm^3. Veränderungen im peripheren Blut sind also gelegentlich nachweisbar. Man muss also damit rechnen, dass es bei einem vorbelasteten Knochenmark, etwa nach einer überstandenen Agranulocytose, gelegentlich zu einer beachtenswerten depressiven Wirkung kommen kann.

SCHÄFER, SCHÖLDGEN und STÜTTGEN 1962 [142] konnten an Hand von Serumuntersuchungen bei Kindern, die wegen Mikrosporie acht Wochen lang mit Griseofulvin behandelt wurden, feststellen, dass die Serumfermente Veränderungen zeigten, die in ihrer Konstellation für eine leichte Permeabilitätsstörung von Muskelzellen sprachen. Leberschädigungen konnten nicht abgeleitet werden. Die Milchsäuredehydrogenase zeigte im Verlaufe der Griseofulvintherapie eine durchschnittliche Erhöhung um etwa 80 %. Die SGOT vermehrte sich im Serum um das Dreifache gegen Ende der Griseofulvintherapie, die SGPT blieb unbeeinflusst. Zwei Monate nach Ende der Therapie gingen die Werte wieder in die Norm über. TAPPEINER [148] und MEINHOF [113] beobachteten Muskelschmerzen, die nach Absetzen des Medikamentes alsbald verschwanden.

Den Einfluss des Griseofulvins auf das menschliche Samenepithel haben MC LEOD und NELSON 1959 und 1960 [108, 109] an Hand sorgfältiger spermiologischer Prüfungen untersucht. Bei Patienten, die drei Monate lang täglich mit 2 g Griseofulvin behandelt wurden, traten keinerlei Änderungen bei der Ejakulatmenge, Gesamtspermienzahl und Zahl der Fehlformen auf. Es ist aber wohl damit zu rechnen, dass ein bereits geschädigtes Samenepithel eine deutliche Wirkung gelegentlich einmal erkennen lässt. So berichten zum Beispiel FRANK, STEINER, KAUFMANN und

CHIARAMONTE 1960 [57], dass eine Oligospermie von 2 bis 4 Millionen unter der Griseofulvinbehandlung in eine Aspermie absank, um sich 14 Tage nach Absetzen der Griseofulvintherapie wieder auf den Ausgangswert von 2 bis 4 Millionen zu erholen.

REDECKER und Mitarbeiter 1964 [126] erreichten, dass die im Tierexperiment gewonnenen Erkenntnisse über den veränderten Porphyrinstoffwechsel nach Griseofulvingaben klinische Bestätigung fanden. Sie berichten von zwei sich in der Remission befindlichen Patienten mit akuter, intermittierender Porphyrie, die nach der Griseofulvinapplikation prompt eine vermehrte Porphyrinausscheidung im Urin zeigten. In einem Fall wurde ein akuter Anfall einer akuten Porphyrie (Darmkoliken, Muskellähmungen) ausgelöst. Diese Beobachtung wurde durch BERMANN und FRANKLIN 1965 [14] an Hand der Beobachtungen an einer Patientin bestätigt. Sie erwähnen auch eine persönliche Mitteilung eines Autors aus Südafrika, wo ein schwerer Fall von akuter Porphyrie nach Griseofulvingaben beobachtet wurde. Es ist nach diesen Ergebnissen klar, dass Griseofulvin bei Patienten mit Porphyrie und Leberschaden vermieden werden sollte (1o4).

2.2.4. Versuch therapeutischer Anwendung der leicht cytostatischen Wirkung des Griseofulvins

Bedingt durch seine mitosehemmende Wirkung auf alle schnellwachsenden Gewebe, wie Knochenmark und Samenepithel, hat das Griseofulvin seine cytostatische Wirkung bewiesen. Im Vergleich zu anderen Cytostatica ist sehr auffallend, dass nach Absetzen des Griseofulvins der cytostatische Effekt anschliessend nicht noch einige Zeit wirksam bleibt, sondern sofort sistiert (8o). Es fehlt auch nicht an Versuchen, diese cytostatische Wirkung nutzbar zu machen.

Bei der Behandlung von Mykosen wurde keinerlei Einfluss auf gleichzeitig vorhandene Hauttumoren (Basaliome, Stachelzellkarzinome, Melanome) festgestellt (66). Bei versuchsweiser Behandlung der Mykosis fungoides erwies sich Griseofulvin als unwirksam. GOLDMANN, BEYER und SCHWARZ 1960 [66] hatten ferner geprüft, ob sich durch intracutane Griseofulvininjektionen einer übersättigten Lösung eine örtliche cytostatische Wirkung bei normaler Haut und bei Hauttumoren erzeugen lässt. Es fand sich nur eine leichte Fremdkörperreaktion, aber keine cytostatische Wirkung. Nur in einem Fall wurde eine Vakuolisation der Zellen in den angrenzenden Haarfollikeln bemerkt.

2.2.5. Griseofulvinwirkung auf Zellkulturen

Die mitosehemmende Wirkung des Griseofulvins auf junges Gewebe konnte ALBRECHT 1962 [4] mit ihren Versuchen an hühnerembryonalen Fibroblasten beobachten. Entsprechend den Berichten HEYMERS [82] konnte sie auch eine griseofulvinkonzentrationsabhängige Beeinflussung der Zellschädigung feststellen.

Bei Versuchen, in Hela-Zellkulturen eine Mitosehemmung durch Griseofulvin zu bewirken, stellten STAMKE und NASEMANN 1961 [146] fest, dass es beim Wachstum dieser Kulturen in griseofulvinhaltigen Medien bereits nach 48 Stunden bei einer Konzentration von 10 µg/ml zu einer deutlichen Mitosehemmung kam; die Chromosomen lagen in unregelmäßigen Gruppen zusammen, Ana- und Telophasen waren nicht mehr zu beobachten. Zellkulturen, die bis zu 38 Tagen unter 10 µg Griseofulvin pro ml Nährmedium standen und nur noch spärliches Wachstum zeigten, wuchsen nach Weglassen des Griseofulvins zu einem Rasen aus.

2.2.6. Aufhebung der mitosehemmenden Wirkung durch Purinkörper

Die cytostatische Wirkung des Griseofulvins wird durch Purinkörper aufgehoben. Darauf basiert die folgende, schon einmal erwähnte Hypothese von MC NALL 1959-1960 [110, 111]. Die Nukleinsäuresynthese soll dadurch verhindert werden, dass das Griseofulvin auf Grund gewisser struktureller Ähnlichkeit mit dem Purinmolekül als kompetitives Analogon von Purinderivaten beim Nukleinsäurestoffwechsel interferiert. Wenn eine solche Interferenz zu einer Verhinderung der Polymerisation führt, dann ist zu erwarten, dass eine Verhinderung der Mitose in der Metaphase eintritt. EL-NAKEEB, MC LELIAN und LAMPEN 1965 [46] haben an Hand von Versuchen bei Pilzen nachweisen können, dass Griseofulvin in der Tat die Nukleinsäuresynthese hemmt.

2.2.7. Nebenwirkungen bei der klinischen Therapie

Nebenwirkungen bei der klinischen Therapie sind bei den üblichen therapeutischen Dosen von 1 bis 2 g für Erwachsene und 0,5 g für Kinder selten, die Intensität der Erscheinungen hält sich meist in mäßigen Grenzen und zwingt kaum je zu Unterbrechungen der Griseofulvin-Medikation. Viele Autoren berichten übereinstimmend über Nebenerscheinungen, die im Folgenden genannt werden. Von den meisten Autoren werden Kopfschmerzen und milde gastrointestinale Störungen in Form von Nausea, Völlegefühl, Appetitlosigkeit und leichten Durchfällen genannt (5, 39, 2, 53, 61, 124, 125, 20, 159, 68, 157). FEGELER und FORCK [53] berichten von zwei Fällen, bei denen wegen andauernder Diarrhoe und Erbrechen die Therapie nicht fortgesetzt werden konnte.

Über das Auftreten von Exanthemen (meist morbilli-

form, gelegentlich scarlatiniform oder urticariell) berichten NASEMANN und BANDMANN [118], COWAN [39], ADAM [2], FEGELER und FORCK [53], GÖTZ [68], SCHÄFER und Mitarbeiter [142] und BLANK und ROTH [20].

Bei Griseofulvintherapie mit gleichzeitigem Alkoholgenuss kann es zu schwerwiegenden Störungen, wie Orientierungsstörungen, Schwindelgefühl kommen (2, 68, 81). Auch MEINHOF [113] berichtet über Schwindel, Taumeligkeit und Benommenheit bei Patienten nach Einnahme einer Tablette Griseofulvin und gleichzeitigem Genuss von geringen Mengen Alkohols.

ETTIG 1963 [51], GÖTZ [68], LAMB und Mitarbeiter 1961 [99] und BLANK [19] konnten eine Photosensibilisierung ihrer Patienten durch das eingenommene Griseofulvin feststellen. Die Patienten reagierten auf die ultravioletten Sonnenstrahlen, die durch das Fensterglas gelangt waren, (über 320 µm) mit akuten erythematösen Reaktionen, während gesunde Normalpersonen bei der gleichen Strahlendosis mit einer gerade sichtbaren Rötung reagierten. Der Pathomechanismus dieser seltenen Reaktion ist noch unbekannt. Andererseits kann Griseofulvin, auf die Oberfläche der Haut aufgetragen, als Lichtschutzmittel wirken (68).

FEGELER und FORCK 1962 [53] teilen die Nebenwirkungen des Griseofulvins in erwünschte und unerwünschte ein. Ergänzend zu den eben genannten unerwünschten erwähnen sie noch vegetative Störungen, wie Herzklopfen und Hitzewallungen. Zu den erwünschten Nebenwirkungen zählen sie den Einfluss des Griseofulvins auf den peripheren Kreislauf und auf das Haarwachstum (95).

Die bei Nagelmykosen häufig beobachteten arteriellen Gefäßspasmen (54, 17) konnten unter der Griseofulvintherapie gelöst werden (56). Bei einem 13-jährigen Mädchen und einem 12-jährigen Jungen, bei denen seit fünf

Jahren trotz vieler Behandlungsmaßnahmen eine totale Alopecie bestand, wurde das Haarwachstum unter Griseofulvintherapie wieder angeregt.

Zusammenfassend lässt sich über die unerwünschten Nebenwirkungen des Griseofulvins aussagen, dass es trotz der häufig langen Dauer der Behandlung bisher zu wenig schweren Nebenwirkungen gekommen ist. Todesfälle, wie sie bei dem an sich atoxischen Penicillin schon häufig beschrieben wurden, sind im Verlauf der Griseofulvintherapie noch nicht beobachtet, zumindest noch nicht beschrieben worden (53).

Über den Entstehungsmechanismus der Nebenwirkungen lässt sich bislang noch wenig sagen, jedoch scheint der Beeinflussung des Kreislaufs und des vegetativ-hormonalen Systems eine gewisse Bedeutung zuzukommen. Der zuletzt genannten Wirkung konnte man zum Beispiel die Störungen der Magen-Darmfunktion zuschreiben (53).

2.2.8. Nichtantibiotische therapeutische Griseofulvinanwendung

Nachdem man die günstige Wirkung des Griseofulvins auf Dermatomykosen bestätigt sah, lenkte sich die Aufmerksamkeit vieler Forscher darauf, eventuelle Anwendungsmöglichkeiten des Griseofulvins bei anderen Erkrankungen zu prüfen.

SLONIM, HOWELL und BROWN 1962 [145] berichteten, dass 16 von 23 Patienten bei einem akuten Anfall von Arthritis urica innerhalb der ersten 48 Stunden nach der Griseofulvineinnahme sehr gut darauf reagierten. Obwohl sie während dieser Zeit 16 g Griseofulvin erhielten, waren keine toxischen Reaktionen festzustellen. Sechs der sieben Patienten, die nicht ansprachen, reagierten auch

nicht auf eine Colchizintherapie. Das Griseofulvin wäre also besonders bei solchen Patienten angezeigt, die auf Colchizin mit stark toxischen Reaktionen reagieren. Das Ansprechen beider Medikamente bei Arthritis urica soll auf der Strukturähnlichkeit beider Stoffe beruhen (111, 125). Allerdings ist ihre Wirkungsweise etwas verschieden. Während Griseofulvin als kompetitives Analogon in die Nukleinsäuresynthese eingreift (110) und somit eine Mitosehemmung in der Metaphase verursacht (121), bewirkt das Colchizin eine Hemmung des Nukleinsäurestoffwechsels durch Hemmung der Nuklease und Nukleotidase (49). Daraus resultiert dann ebenfalls eine Mitosehemmung (111). Bei einer kombinierten Anwendung von Griseofulvin und Colchizin kommt es zu einer Potenzierung der toxischen Wirkung, wie EPSTEIN und LARSON [49] im Tierversuch an weissen Mäusen nachweisen konnten. Ihren Aussagen zufolge sollte eine kombinierte Therapie von Griseofulvin und Colchizin unterlassen werden, da man noch nichts Genaueres über die kombinierte Toxizität beim Menschen weiss (49).

D'ARCY und Mitarbeiter [42] erwähnen, dass Griseofulvin eine entzündungshemmende Wirkung hat, die allerdings nur ein drittel bis ein zehntel so stark ist wie die des Cortisons (84). Bei Injektionen in Psoriasis- und Neurodermitisefflorescenzen konnten GOLDMANN und Mitarbeiter 1960 [66] keine antiinflammatorische Wirkung feststellen.

Wie schon erwähnt, besitzt das Griseofulvin auch eine gewisse spasmenlösende Wirkung auf den peripheren Kreislauf, was sich besonders günstig bei der Behandlung der mit Gefäßspasmen einhergehenden Nagelmykosen äusserte (56). Diese Wirkung des Griseofulvins veranlasste die Autoren, drei Patientinnen mit einer diffusen Sklerodermie mit Griseofulvin zu behandeln. Die Erfolge waren ausgezeichnet. Das Kältegefühl in den Händen

verschwand, oberflächliche therapieresistente Ulcerationen heilten in kurzer Zeit ab, das Spannungsgefühl liess nach, und die Haut wurde weicher. BIGGIO und Mitarbeiter 1964 [16] zeigten, dass eine normalerweise durch Ergotamin bedingte Ischaemie und Nekrose im Schwanz von Ratten durch gleichzeitige Griseofulvintherapie verhindert werden kann. RUBIN 1963 [14o] studierte die Wirkung von Griseofulvin auf die Koronargefäßdurchblutung bei Hunden, indem er das Griseofulvin in eine Koronararterie injizierte. Daraufhin bemerkte er eine vermehrte Koronargefäßdurchblutung ähnlich der, die man nach intraarterieller Injektion von Papaverin findet. Auch nach intravenöser Injektion kam es zu einer vermehrten Koronardurchblutung, die durch die Blockade autonomer Ganglien nicht aufgehoben wurde. RUBIN [14o] nimmt somit an, dass die Wirkung des Griseofulvins direkt an den Blutgefäßen angreift und nicht über nervöse oder humorale Mechanismen gesteuert wird.

Im gleichen Jahr berichteten DE PASQUALE, BURKS und BURCH [45] von zehn Patienten, die ihre Angina pectoris mit Griseofulvin behandelten. Sie konnten eine merkliche Verminderung der pectanginösen Anfälle bemerken. Schliesslich erwähnten COHEN und Mitarbeiter 196o [37], dass das Griseofulvin auch beim Schulterarmsyndrom einschliesslich der posthemiphlegischen und ideopathischen Typen erfolgreich verwendet werden konnte.

2.2.9. Klinische Erfahrungen mit der Griseofulvinbehandlung von Dermatomykosen

Seit den ersten drei Mitteilungen von RIEHL [129] in Österreich, WILLIAMS [159] in England und BLANK [2o] in Amerika über die ausgezeichnete Wirkung des oral anwendbaren Antimykoticums Griseofulvin, häuften sich die Berichte über positive Therapieergebnisse bei Derma-

tomykosen. Verfolgt man die Literaturangaben, so findet man eine gute therapeutische Beeinflussung der verschiedenen Dermatomykosen bestätigt. Die Griseofulvinbehandlung war sowohl bei neuen als auch bei über viele Jahre bestehenden Epidermophytien und Onychomykosen wirksam.

Einleitend die Erkrankungen, bei denen eine Indikation für eine Griseofulvinbehandlung gegeben ist (81).

a. Trichophytia superficialis et profunda
b. Mikrosporie
c. Onychomykose durch Dermatophyten
d. Epidermophytia plicarum, manuum, pedum durch Dermatophyten
e. Favus
f. Sporotrichose (hier allerdings fraglich).

Am schnellsten und eindruckvollsten treten therapeutische Erfolge bei Trichophytia superficialis bzw. profunda ein. Schon innerhalb einer Woche kommt es unter der Therapie zu raschem Rückgang der Schwellung und Schmerzhaftigkeit, die weitere Ausbreitung des Krankheitsprozesses und die Bildung neuer Satelitenherde in der Umgebung wird verhindert. Zur Abheilung ist jedoch eine Behandlung von mindestens vier Wochen, nicht selten für die Dauer von zwei bis drei Monaten erforderlich, gleichgültig, ob es sich um eine ältere oder frische Infektion handelt (26, 129).

Auch bei der Mikrosporie, verursacht durch Mikrosporum Audouinii und Mikrosporum canis gelingt es, durch eine drei bis acht Wochen dauernde Behandlung, eine klinische Heilung zu erzielen, bei der die Haare unter dem Woodlicht mikroskopisch und kulturell negativ werden (123, 149). Die notwendige Dauer der Behandlung ist abhängig von der Wachstumsgeschwindigkeit

der Haare, kann daher nicht schematisch festgelegt werden, sondern bedarf individueller Kontrolle durch das Woodlicht, das Nativpräparat und durch die Pilzkultur (81). Auch was die Behandlungsdauer der Onychomykosen betrifft, lässt sich nur schwer eine Regel angeben. Die Griseofulvintherapie muss solange durchgeführt werden, bis der missgebildete, bröckelige, von Hyphomyceten durchwachsene Teil vom Nagel und Nagelbett durch neu vorgewachsenes Nagelkeratin ersetzt ist (2). Hierzu werden von den verschiedenen Autoren verschiedene Zeiten angegeben. FRYDRYCHOWICZ 1962 [60]: durchschnittliche Behandlungsdauer sieben bis acht Monate, ohne Aufgliederung in Erkrankungen der Finger- oder Zehennägel. RIETH [131]: Fingernägel vier Monate, Fussnägel etwas mehr als sieben Monate. BARLOW 1962 [10]: Fingernagelinfektionen vier bis fünf Monate, Zehennagelinfektionen auch nach 12 Monaten bei keinem der Patienten vollständige Erscheinungsfreiheit.

Bedingt durch die lange, und oft nicht einmal zufriedenstellende orale Griseofulvintherapie, gingen viele Autoren zur Extraktion der Nägel in Kombination mit dem Antibiotikum als Methode der Wahl über (127 ,128). Damit sollte die monatelange Griseofulvintherapie, die besonders bei den langsamer wachsenden Fussnägeln durchgeführt werden musste, verkürzt werden. HARGRAEVES 196o [79] konnte an Hand von Versuchen feststellen, dass die Fingernägel sowohl nach Extraktion als auch bei konservativer Behandlung die gleiche Zeit bis zur Heilung brauchen. Bei den Zehennägeln war schon nach kurzer Zeit eine grössere Anzahl von Heilungen zu sehen.

REICHENBERGER und GÖTZ [127] berichten von dieser kombinierten Griseofulvin-Extraktionstherapie, dass schon innerhalb von zwei Monaten 8o % der Tinea unguium-Fälle geheilt waren. Dehnten sie die Behandlung auf ein Vierteljahr aus, dann stieg die Erfolgschance auf 95 %

der Fälle. In der gleichen Zeit heilten die Patienten nach oralen Griseofulvingaben ohne Extraktion aber nur in rund lo % der Fälle ab.

Die häufig im Rahmen der oralen Griseofulvinbehandlung festgestellten therapeutischen Mißerfolge sind nicht so sehr auf die Griseofulvinresistenz der Erreger, sondern vielmehr auf die individuellen Faktoren seitens der Patienten, wie ungenügende Resorption des Griseofulvins, gestörtes Nagelwachstum (61, 93, 22) und schlechte Durchblutungsverhältnisse (131, 53) zurückzuführen. Gestützt wird diese These durch Beobachtung zweier Fälle von Trichophyton rubrum-Infektionen beim Menschen und eines Falles von experimenteller Mikrosporum-canis-Infektion bei einem Versuchstier, wobei jeweils die Griseofulvinbehandlung vollkommen versagte, während die Erreger in vitro keinerlei Griseofulvinresistenz erkennen liessen. Es konnte gezeigt werden, dass die erforderliche Dosis und Behandlungsdauer in vivo nicht in Abhängigkeit steht zu der verschieden starken Griseofulvinempfindlichkeit der einzelnen Stämme in vitro (153).

Die sogenannte "Resistenz in vivo", von der man oft bei Nagelmykosen spricht, ist eine schwer beweisbare Behauptung, die im Grunde nichts weiter besagen soll, als dass eine Mykose trotz Griseofulvin nicht abgeheilt ist, ohne die Gründe aber näher zu analysieren (131 a).

Nach RIETH [131a] kommen noch weitere Ursachen für das Versagen der Griseofulvintherapie in Frage, und zwar dann, wenn die Diagnose einer Dermatomykose vorher nicht eindeutig durch Nativpräparat und Kultur gesichert wurde. Er nennt 1. Griseofulvinempfindliche Pilze (Hefen und Schimmel) als alleinige Erreger. 2. Mischinfektionen aus griseofulvinempfindlichen Trichophytonstämmen in Verbindung mit griseofulvinempfindlichen Hefen oder Schimmelpilzen, die nicht zusätzlich

behandelt wurden. 3. Erregerwechsel im Verlauf der Behandlung. Es kann zum Beispiel eine ursprünglich durch Trichophyton rubrum verursachte Erkrankung durch Candida albicans weiter unterhalten werden.

Therapieversager können auch durch besondere anatomische oder physiologische Gegebenheiten des Nagelwachstums bedingt sein. GRIMMER [73, 74, 75] hat die Bedeutung der Histopathologie der Onychomykosen für den Ablauf des Heilungsvorganges während der Griseofulvintherapie besonders herausgestellt. Die schneller wachsende Nagelplatte schiebt sich über das noch befallene subunguale hyperkeratotische Gewebe. Dieses "Gletscherprinzip" (GRIMMER) des Wachstums kann dazu führen, dass kleinere mykotische Herde unter der Nagelplatte liegenbleiben. In anderen Fällen verdeckt eine scheinbar gesunde Nagelplatte, durch einen flachen Hohlraum getrennt, ein noch ganz von Pilzen befallenes Nagelbett. POLEMANN 1962 [124] beschrieb diesen Zustand als "Atrappennagel". Diese oft von der Blutversorgung abgetrennten Pilznester sinddie gelegentliche Ursache für das lange Versagen der Griseofulvintherapie.

Die Epidermophytia manuum et pedum konnte man ebenfalls mit Griseofulvin erfolgreich behandeln. Doch kommt man hier auch mit den früheren lokalen Behandlungsmethoden relativ schneller zum Ziel (95). Auch ROTH und BLANK 1960 [139] schlugen auf Grund ihrer Ergebnisse bei den Untersuchungen des Griseofulvintransportes durch die Haut vor, dass es angebrachter sei, die oberflächlichen, nicht haargebundenen Dermatomykosen, durch die bisher bekannten, lokalen Antimykotica zu behandeln.

Favus: Über die ausgezeichnete Wirkung von oralen Griseofulvingaben bei Favus berichteten ESTEVES und

NEVES 1959 [50], SAMS 1960 [141], DEGOS 1960 [43], und KOPP und Mitarbeiter 1960 [96].

Tiefe Mykosen: Auch über das Ansprechen der seltenen tiefen Mykosen liegen einige Untersuchungen vor. Bei acht Fällen von Sporotrichose waren tägliche Dosen von 1 bis 2 g deutlich wirksam und führten in einigen Fällen zur klinischen Heilung (100). Zwei Fälle von Chromomykose dagegen blieben unbeeinflusst durch Griseofulvin. Diese Ergebnisse stehen jedoch ziemlich vereinzelt der Fülle der übrigen Literaturangaben über gute Heilungserfolge bei Mykosen gegenüber.

2.3. Die Wirkung des Griseofulvins auf die Dermatophyten (licht- und elektronenmikroskopische Beobachtungen)

Schon im Jahre 1949 entdeckte BRIAN [26] bei Untersuchungen über die biologische Aktivität des Griseofulvins, dass es ausgesprochen morphogenetische Veränderungen der Pilzhyphen bewirkt, die aber nach Überimpfung auf einen griseofulvinfreien Nährboden wieder aufgehoben wurden. Nach einer kurzen Inkubationszeit von einhalb bis zwei Tagen nach dem Auskeimen (23) kommt es zu den typischen morphologischen Veränderungen. Die Pilzsporen bleiben durch das Griseofulvin unbeeinflusst wie BLANK und ROTH [20] und BRIAN 1960 [25] an Hand von Versuchen nachweisen konnten, bei denen sie die Sporen 14 Tage lang in einer Griseofulvinlösung aufbewahrten und danach ein normales Auskeimen und Wachstum beobachten konnten.

In Abhängigkeit von den gesteigerten Griseofulvinkonzentrationen kommt es zu den verschiedensten, aber für jede Konzentrationsstufe typischen, morphologischen Veränderungen der Dermatophyten (25, 26, 90, 91, 7, 81,

131, 6). Bei Konzentrationen zwischen o,ol und o,1 µg/ml wurde nur ein vermindertes Wachstum der Hyphen festgestellt (6). Auch bei Konzentrationen von 1 bis 2 µg/ml sind die Hyphen weniger ernst beschädigt. Sie sind geschlängelt in Form des "curling effects", stärker verzweigt als normal, und ausserdem kommt es zu einer Richtungsänderung des Wachstums in der Form, dass die Hyphen die Neigung haben, zu ihrem ursprünglichen Auskeimungspunkt zurückzuwachsen. Bei Griseofulvinkonzentrationen zwischen 5 und lo µg/ml ist die Hyphenbildung schwer gestört. Man sieht Verkrüppelung und enorme Anschwellung des Mycels, Hyphenverknäuelung, Hyphenzerstörung mit Protoplasmaaustritten sowie teilweise ballonartige Auftreibungen (91, 131). Ausserdem kommt es zur Bildung atypischer Zellgrössen und zum Verlust normaler Cytoplasmastrukturen (132, 138, 6, 18). Gerade bei den hohen Griseofulvinkonzentrationen sind das Anschwellen und das Platzen der Hyphenenden ein häufiges Bild. Die Menge des Protoplasmas, die an der geplatzten Stelle ausgetreten ist, verrät, dass ein enormer Druck in der Zelle gewesen sein muss, bevor die Hyphe platzte (6).

BLANK und Mitarbeiter 196o [18] konnten diese mit dem Lichtmikroskop gemachten Beobachtungen mit dem Elektronenmikroskop bestätigen und ergänzen. Sie beobachteten bei ihren Untersuchungen ausser den Vakuolenbildungen das Fehlen von Mitochondrien und grosse Lipoidkörper, die durch Septumdefekte von einer Zelle in die folgende wandern konnten. Die Zellwand der Hyphen schien unter der Griseofulvineinwirkung ihre Integrität zu verlieren, obwohl sie andererseits sehr dick werden konnten. Risse erschienen an der Stelle, wo sich die Zellwand in unregelmäßige und zersplitterte Wandlagen zerteilt. Die Autoren nehmen an, dass die jüngsten Pilzzellen durch Griseofulvin abgetötet werden, während die älteren, mehr ruhenden Zellelemente, nicht so drastisch angegriffen werden und somit überleben.

BLASCHKE-HELLMESSEN 1959 [21], RIETH [132], VINCENT 1947 [156], BRIAN [26] konnten mit anderen, im Folgenden genannten Substanzen, ähnliche morphologische Veränderungen an Dermatophyten erzeugen: Unter dem Einfluss von antimykotisch wirksamen Kulturfiltraten aerober Sporenbildner konnte BLASCHKE-HELLMESSEN [21] sowohl Veränderungen der Zellwand als auch des Protoplasmas beobachten. Die einzelnen Zellen waren kürzer und blasig aufgetrieben, ausserdem entstanden, mit der Konzentration des Antimykotikums ansteigend, riesige Kugelgebilde am Ende der Hyphen. Das Protoplasma war unter dem Einfluss des Hemmstoffs stärker vakuolisiert und granuliert als bei Kontrollkulturen. Während es durch hohe Konzentrationen von Dimethylformamid (2 bis 5 %) (132) zu ähnlichen Veränderungen kommt, bewirken Desinfektionsmittel, wie Formalin (21) oder einfache aromatische Säuren (156) nur eine Wachstumshemmung bis zur völligen Wachstumsunterdrückung, aber es kommt zu keiner Abweichung von der normalen Morphologie.

Die Üppigkeit des Wachstums der pathogenen Hautpilze wird durch den antimykotischen Zusatz weitgehend beeinträchtigt, was im Hinblick auf die bisher geschilderte starke morphologische Veränderung der Dermatophyten nicht verwunderlich ist.

Um auch makroskopisch die hemmende Wirkung des Griseofulvins festzustellen, wurde die radiale Wachstumsrate der Pilze gemessen, der wachsende Rand wurde unter dem Mikroskop festgestellt (26, 23). An Hand der Versuchsergebnisse wurde bestätigt, dass zwischen der Wachstumsrate und der Griseofulvinkonzentration ein enges Verhältnis besteht. Bei nur 2 µg/ml war der Wachstumsradius der Kultur nur noch halb so gross wie bei der Kontrolle, obwohl die morphologischen Veränderungen hier nicht so auffallend sind. Bei Konzentration von 5 µg/ml hörte das Wachstum nahezu auf.

Trotz dieser ausgeprägten morphologischen Veränderungen kam es zu keiner Beeinflussung der Atmung oder der Glykolyse der Dermatophyten (26).

Eine interessante Beobachtung, die wachstumsbeeinflussende Wirkung des Griseofulvins betreffend, konnte RIETH [132] machen. Er hatte einen 5 % Dimethylformamid enthaltenden Nährboden mit Makrokonidien von Keratinomyces Ajelloi und Mikrosporum gypseum beimpft, ohne dass es zum Auskeimen kam. Nach Zugabe von 5 bis 5o µg/ml Griseofulvin je nach Pilzart wurde die Keimhemmung nicht nur aufgehoben, sondern es kam zu einer überstürzten Bildung immer neuer, offenbar minderwertiger Keimschläuche, die zum Teil platzten. Er hatte den Eindruck, als "keime sich der Pilz tot". Bei nur 1 % Dimethylformamid kam diese Wirkung nicht zustande.

2.4. Die chemische Wirkung des Griseofulvins auf die Wachstumszone an der Hyphenspitze

Schon bald nach den ersten Versuchsergebnissen über die biologische Wirksamkeit des Griseofulvins an Botrytis allii versuchten BRIAN und Mitarbeiter 1949 [26] und 196o [24], den eigentlichen Angriffspunkt und die Wirkungsweise des Griseofulvins näher zu klären. Das morphologische Verhalten unter Griseofulvin liess BRIAN annehmen, dass es durch einen Wechsel in der Gestaltung der Zellwand, und zwar in der Wachstumszone an der Hyphenspitze bedingt werde. Es ist also die neu wachsende Zellwand, die von Griseofulvin beeinflusst wird. COOPER [38] hat einige Zeitrafferstudien von Botrytis allii-Sporen während des Auskeimens in Gegenwart von Griseofulvin gemacht. Es zeigte sich, dass die Rigidität der Zellwand in der Nähe der Hyphenspitze verringert wird, und dass die Anschwellungen und Verdrehungen von der Stelle dieser betroffenen, veränderten Zellwände ausgehen, die dem inneren Druck

nicht widerstehen. Mehr oder weniger können dadurch alle durch Griseofulvin bedingten Veränderungen als "Zellwanddefekte" (26) charakterisiert werden. Diese enormen Verzweigungen, die von Konzentrationen von 1 µg/ml an gesehen werden können, sollen durch die Bildung sogenannter "schwacher Stellen" (weak spots) in der wachsenden Zellwand zustande kommen. Sie entstehen dort in einer ungeordneten Art und Weise. Bei höheren Konzentrationen (1o bis 2o µg/ml) scheinen die verschieden lokalisierten Wachstumspunkte nicht mehr vorhanden zu sein, denn die Ausbuchtungen der Zellwand sind mehr auf eine bestimmte Stelle lokalisiert (26).

Eine indirekte Stütze für diese Interpretation der Antwort auf die Griseofulvinwirkung als einer "Zellwandwirkung" ist dadurch gegeben, dass Griseofulvin nur auf Zellwände mit einer bestimmten Struktur wirkt. Man vermutet, dass die Chitinsynthese der Zellwand durch das Griseofulvin beeinflusst wird (26), aber selbst unter den Myceten mit chitinhaltigen Zellwänden variiert, nach den Befunden von JUNG und GERHARD 1963 [9o], die Empfindlichkeit gegenüber Griseofulvin weitgehend. Auch ABBOT und GROVE 1959 [1] und NAPIER und Mitarbeiter 1956 [117] fanden an einigen Pilzen trotz chitinhaltiger Zellwände keinen "curling factor". Sie und auch BLANK 1965 [19] zweifeln deshalb an, ob die bloße Anwesenheit von Chitin in der Hyphenwand die Empfindlichkeit eines Pilzes gegenüber Griseofulvin sichert.

Die Wachstumshemmung durch Griseofulvin kann nicht auf der Basis einer Interferenz mit der Chitinsynthese der Zellwand erklärt werden, da viele der Pilze, die Chitinwände besitzen, nicht gehemmt werden und viele, die gehemmt werden, nicht annähernd die Strukturen dieses Polymers haben. Man nimmt eher die Möglichkeit einer allgemeinen Hemmung des Nukleinsäurestoffwechsels an

und somit eine Verminderung in der Fähigkeit, Protein und die mehr komplexeren Zellverbände und Polysaccharide, aus denen die Zellwände dieser Organismen bestehen, zu synthetisieren (111).

Der genaue Mechanismus der antimykotischen Wirksamkeit von Griseofulvin ist noch nicht definitiv gekennzeichnet. EL-NAKEEB und LAMPEN 1965 [47, 48] haben gezeigt, dass das Antibiotikum an die Pilze gebunden wird, die griseofulvinempfindlich sind. Die Pilze können Griseofulvin intrazellulär bis zu einer hundertfachen Konzentration von der des Nährmediums anhäufen. Während der Periode der Wachstumshemmung hemmte Griseofulvin die Protein-, Nukleinsäure- und Aminosäuresynthese (46). Es verminderte den Einbau von C ^{14}-Uridin oder C ^{14}-Thymidin in die Nukleinsäuren des empfindlichen Pilzes -in diesem Falle Mikrosporum gypseum - wesentlich. Dagegen bestand kein Einfluss auf den Einbau von C^{14}-Leucin oder C ^{14}-Valin in das Protein.

Diese chemischen Studien sind aber noch nicht abgeschlossen, sie bedürfen noch weiterer Untersuchungen, da die Verzerrung der Zellwand von Dermatophyten, die in Gegenwart von Griseofulvin wachsen, noch nicht durch den Mechanismus der gehemmten Nukleinsäuresynthese erklärt ist (19).

Es ist sehr auffallend, dass Griseofulvin nur dort wirkt, wo es in unmittelbarem Kontakt zu den Hyphen steht (25, 26, 23, 6), nämlich an der Spitze der Hyphen. Schon einige Millimeter unterhalb der Hyphenspitze ist es wirkungslos.

Das auf griseofulvinreichem Nährboden wachsende, stark geschädigte vegetative Mycel bildete ein völlig unverändertes, gerade wachsendes Luftmycel. Diese Beobachtungen (1, 25, 26, 75, 6, 23) liessen vermuten, dass

das Griseofulvin im Mycel nicht fortgeleitet wird. ABBOT und GROVE [1] konnten auch auf spektrophotometrische Methode keinerlei Aufnahme oder Fortleitung von Griseofulvin durch Phycomyces feststellen.

Gelangen diese unveränderten Luftmycelien auf griseofulvinhaltigen Nährboden, so wird ihrem Wachstum abrupt Einhalt geboten. Aus diesem Kontaktpunkt wachsen rutenähnlich viele kleine, stark verzweigte und morphologisch veränderte Mycelien, die zum Teil, wenn es sich nicht um gar zu hohe Griseofulvinkonzentrationen im Nährboden handelt, als Luftmycel den gleichen Vorgang wiederholen können. AYTOUN und Mitarbeiter 1960 [7] sprechen von dieser Art der Ausbreitungsmöglichkeit eines Mycels als von dem "Sprössling - Typus" (stolon-type).

Auf die Frage, ob die Wirkung des Griseofulvins auf die Pilzzellen ausschliesslich fungistatisch oder fungicid ist, muss man sagen, dass es abhängig von dem Ort der Einwirkung sowohl fungicid als auch fungistatisch wirkt (19). Sowohl durch die Beobachtungen im Elektronenmikroskop (18) als auch die im Lichtmikroskop (91, 131, 138, 6) wurde eine Zerstörung, beziehungsweise eine Abtötung der jungen wachsenden Zelle in Form von Plasmaaustritten und ballonartigen Anschwellungen festgestellt. Während die älteren Zellen nicht abgetötet wurden und nach Überpflanzung auf ein griseofulvinfreies Medium wieder normal wuchsen (23).

Mit Hilfe der Redoxindikatoren Kaliumtellurit und 2, 3, 5 Triphenyl-tetrazoliumchlorid (Farbstoffniederschlag bei Fermentreaktionen) untersuchten JUNG und GERHARD [90, 91] die Aktivität reduzierender Fermentsysteme der Pilze unter Griseofulvineinfluss. Als Testmyceten dienten ihnen Trichophyton mentagrophytes und Trichophyton rubrum. Die durch 2 µg Griseofulvin pro ml her-

vorgerufenen Veränderungen waren so intensiv, dass keine Fermentreaktionen mehr nachweisbar waren, während die Fermentsysteme der geprüften Hefestämme auch bei 100 µg Griseofulvin pro ml noch vollständig intakt waren.

Auf dem 2 µg Griseofulvin pro ml haltigen Nährboden sahen die Autoren nach 10 bis 14 Tagen aus einem Knäuel verkrümmter, gequollener Hyphen gerade, schlanke Hyphen hervorwachsen, die eine positive Fermentreaktion zeigten. Irgendwie muss der Pilz also in der Lage sein, das Griseofulvin zu entgiften. Eine Griseofulvinasebildung wird von den Autoren zur Debatte gestellt. Ähnliche Beobachtungen wurden von BÖHME und ZIEGLER [23] gemacht.

Nach ZIEGLER und BÖHME 1962 [162] hemmt Griseofulvin entweder direkt die Keratinase der Pilze, also das Enzym, das notwendig ist, das für tryptische Proteinase unangreifbare Keratin soweit zu verändern, dass in einer Folgereaktion die Proteinase eingreifen kann, oder das Antibiotikum "imprägniert" das Keratin und macht es somit auch für die Keratinase unangreifbar. Die Proteinaseaktivität wird nicht herabgesetzt, sondern eher durch die Griseofulvineinwirkung vorübergehend gesteigert. Das führen die Autoren auf ein Freiwerden von Endo-Proteinase als Folge einer Griseofulvinbegiftung der Mycelien zurück. Da die Proteinasen im Protoplasma der Pilze gebildet werden, Griseofulvin jedoch das Plasmawachstum hemmt, nimmt im Endeffekt bei mit Griseofulvin begifteten Pilzen die Ektoproteinaseaktivität ab. Durch Griseofulvin wird die Proteinasesynthese im Protoplasma gehemmt (162).

Auch auf den Phosphatstoffwechsel der Pilze hat das Griseofulvin einen gewissen Einfluss. Wie BÖHME und ZIEGLER [23] beobachten konnten, nimmt der absolute Phosphatgehalt eines auf griseofulvinfreiem Nährboden wachsen-

den Mycels in den ersten 18 Tagen des Versuchs besonders zu. Nach der Begiftung mit Griseofulvin hört die Phosphataufnahme auf, ja es kommt sogar bei höheren Griseofulvindosen zu einer Phosphatausscheidung in das umgebende Substrat. Daraus wird geschlossen, dass Griseofulvin in einem gewissen Konzentrationsbereich die oxydative Phosphorylierung hemmen kann.

2.6. Abbau des Griseofulvins durch Hyphomyceten

Andererseits kann aber auch die Wirkung des Griseofulvins durch die Pilze selbst zunichte gemacht werden, wie dies im Folgenden an Hand der Versuche von BOOTHROYD und Mitarbeiter 1961 [22] geschildert wird. Sie machten wahrscheinlich, dass einige Pilze, in diesem Fall Mikrosporum canis, Botrytis allii und Cercospora melonis in der Lage sind, Griseofulvin durch Demethylierung unwirksam zu machen: Auf einem griseofulvinhaltigen Nährboden wurden diese Organismen anfangs stark im Wachstum gehemmt, aber nach einigen Tagen zeigte der Rand der Pilzkolonie nochmals Pilzwachstum, das nur durch eine Zerstörung der Wirksamkeit des Griseofulvins zustande gekommen sein konnte. Biologische Versuche zeigten, dass der Nährboden frei von Griseofulvin war, durch Papierchromatographie konnten aber andere Substanzen, und zwar demethylierte Formen des Griseofulvins nachgewiesen werden. Das Vorhandensein einer Griseofulvinase konnte nicht bestätigt werden.

An Hand der bisher untersuchten Dermatophytenarten ist es sicher, dass sie alle, wenn auch durch sehr verschiedene Konzentrationen, durch Griseofulvin in vitro in ihrem Wachstum gehemmt werden (7o). Diese Grenze der Wachstumshemmung - der minimalen Hemmkonzentration - ist aber auch bei ein und demselben Stamm keine feste Größe, wenn man nicht noch andere Faktoren mitbeachtet. In erster Linie ist dieser Wert abhängig von der Beobachtungs-

zeit (38), aber auch von der Temperatur, der Konsistenz des Nährbodens (fest oder flüssig) oder von der Nährbodenzusammensetzung (62). Einer der wesentlichen Faktoren ist jedoch die Beobachtungsperiode, denn je länger diese Zeit sein wird, um so höher wird der Wert der minimalen Hemmkonzentration sein (138).

2.7. Die differente Griseofulvinempfindlichkeit einzelner Dermatophyten

Um die Griseofulvinempfindlichkeit der einzelnen Arten festzustellen, testete GÖTZ [7o] 18 verschiedene Dermatophytenarten aus den vier Genera Trichophyton, Mikrosporum, Epidermophyton und Keratinomyces und teilte sie nach den Ergebnissen am 2o. Tag nach der Aufimpfung folgendermaßen ein:

hochgradig empfindlich	:	Mikrosporum Audouinii
		" canis
		Trichophyton verrucosum
		" Megninii
gut empfindlich	:	Trichophyton gallinae
		" concentricum
		" ferrugineum
		" soudanense
		" violaceum
		" rubrum
		Epidermophyton floccosum
weniger empfindlich	:	Mikrosporum gypseum
		" distortum
		Trichophyton mentagrophytes
		" Schönleinii
		" tonsurans
		" Quinckeanum
		" equinum
		Keratinomyces Ajelloi

Auffallend war der Umstand, dass minimale Mengen, wie 1 µg Griseofulvin pro ml bei bestimmten Pilzarten eine Verzögerung der Entwicklung erzwangen, die zweihundertfache Menge im Nährboden aber nicht etwa eine totale Hemmung bewirkte, sondern nur eine, wenn auch etwas verstärkte Wachstumshemmung erzielte.

2.8. Züchtung resistenter Dermatophytenstämme in vitro

Ebenso wie sich im Bereich der Bakterien gegen Antibiotika resistente Stämme gebildet haben, so besteht auch bei den Dermatophyten die Möglichkeit oder Gefahr, dass sich griseofulvinresistente Stämme bilden können. Zwar sind noch keine primär resistenten Stämme gefunden worden (83, 54, 87), aber sowohl durch Nährboden- und Tierpassagen als auch während der Griseofulvinbehandlung am Menschen konnten griseofulvinresistente Stämme isoliert werden.

Vielen Autoren (3, 136, 135, 133, 138, 134, 154, 7o, 7, 62, 15o) gelang es durch Verpflanzung auf immer neuen Nährböden mit höheren Griseofulvinkonzentrationen griseofulvinresistente Dermatophytenstämme zu züchten. Doch fast alle dieser resistenten Stämme verloren ihre vermehrte Resistenz und wurden so empfindlich wie die Ausgangskulturen, wenn man sie für eine Generation auf einem griseofulvinfreien Agar züchtete.

Einigen Autoren (135, 134) war es möglich, Mikrosporum canis und Trichophyton rubrum nach vier Generationen noch bei 2o bzw. 15 µg Griseofulvin pro ml wachsen zu sehen, während es ROTH und Mitarbeiter [138] bei gleichen Versuchsbedingungen nicht gelang, einen griseofulvinresistenten Trichophyton-rubrum-Stamm zu züchten.

ROBINSON und Mitarbeiter [134] war es sogar möglich, Mikrosporum Audouinii, das sehr griseofulvinempfindlich ist, schon nach einigen Passagen bei 1 µg Griseofulvin pro ml wachsen zu sehen. Bei Epidermophyton floccosum und Trichophyton Schönleinii konnte die "minimale Hemmkonzentration" (die Konzentration, bei der gerade noch ein Wachstum möglich ist) von 5 µg Griseofulvin pro ml schon nach einer Passage bis auf 2o bzw. 25 µg/ml gesteigert werden.

Die einwandfrei höchste "minimale Hemmkonzentration", bei der durch Gewöhnung noch ein Wachstum möglich war, erzielte THURNER [15o] mit ihren Versuchen. Und zwar überimpfte sie in 12 Griseofulvinpassagen in einem Zeitraum von mehreren Monaten die einzelnen Kulturen auf Nährböden mit ansteigenden Griseofulvinkonzentrationen mit dem Ergebnis, dass sich einige griseofulvinempfindliche Organismen rasch dem Fungistaticum anpassten und dass bei der letzten Untersuchungsreihe Dermatophyten bei 32ooo µg Griseofulvin pro ml wuchsen, während andere sich nur unwesentlich anpassten. Epidermophyton floccosum erreichte vom ursprünglichen Wert der "minimalen Hemmkonzentration" von o, 125 µg/ml nach 9 Passagen ein Überleben auf 32 µg/ml, jedoch mit starkem Pleomorphismus. Keratinomyces Ajelloi erreichte nach anfänglicher "minimaler Hemmkonzentration" von 8 µg Griseofulvin pro ml nach 12 Passagen noch ein gutes Wachstum bei 32ooo µg/ml.

Auch Trichophyton mentagrophytes variatio granulosum und variatio interdigitale erreichten nach anfänglichem Grenzwert von 1 bis 2 µg/ml nach 1o Passagen ein gutes Wachstum bei 32ooo µg/ml. Mikrosporum canis war sehr langsam an Griseofulvin zu gewöhnen, die "minimale Hemmkonzentration" stieg nach 12 Passagen von o, 125 auf 64 µg Griseofulvin pro ml. Mikrosporum gypseum stieg in gleicher Zeitspanne und

gleichen Passagen von 1 auf 1600 µg Griseofulvin pro ml. Trichophyton rubrum und Trichophyton Schönleinii waren schlecht anzupassen, ihr Hemmwert verschob sich von 0,25 auf 16 µg bzw. von 0,125 auf 128 µg Griseofulvin pro ml.

Das makroskopische Bild aller Stämme auf Nährböden mit hohem Griseofulvingehalt war mit Ausnahme von Trichophyton rubrum fast durchweg gedrungener als die Ausgangskultur. Mit Ausnahme von Trichophyton mentagrophytes variatio interdigitale und granulosum, die vorübergehend violetten Farbstoff bildeten, gab es in der Farbstoffbildung keine Abweichung.

Als Ergänzung zu diesem Kapitel der Resistenzentwicklung ist GENTLES [62] zu erwähnen, der eine sehr interessante Beobachtung machte. Die nicht pathogenen Arten Keratinomyces Ajelloi und Trichophyton terrestre, beide Bodenbewohner, aber nach ihrer botanischen Stellung Dermatophyten, sind nahezu fünfmal resistenter gegen Griseofulvin als die gewöhnlichen Dermatophyten. Andererseits sind Mikrosporum gypseum, ebenfalls ein Bodenbewohner, und ein einzelner Stamm von Keratinomyces, der pathogene Eigenschaften aufwies, genauso griseofulvinempfindlich wie die anderen Dermtophyten. GENTLES [62] stellt die Frage zur Diskussion, ob eine Beziehung zwischen Pathogenität und Griseofulvinempfindlichkeit besteht, und ob die Entwicklung einer sich dauernd steigernden Griseofulvinresistenz eines Dermatophyten mit der Verminderung der Fähigkeit, Keratin zu befallen, vergleichbar ist. Zur Zeit gibt es aber klinisch noch keinen Beweis, der diese Spekulation unterstützen könnte (83).

2.9. Entwicklung griseofulvinresistenter Stämme durch Tierpassagen

Aber nicht nur in vitro, sondern auch durch fortlaufende

Kaninchenpassagen bei gleichzeitiger Verabfolgung von Griseofulvin konnten Dermatophytenstämme resistenter gemacht werden. ITO, TAKEUCHI und TOMOMATSU [87] infizierten weisse Kaninchen mit Trichophyton mentagrophytes variatio asterioides, die eine anfängliche minimale Hemmkonzentration von o,5 µg Griseofulvin pro ml zeigten. Während der Passagen wurde jeweils Pilzmaterial zum Nachweis der Griseofulvinempfindlichkeit in vitro abgenommen. Diese hatte sich im Laufe der acht Passagen auf eine "minimale Hemmkonzentration" von 12o µg/ml gesteigert. Im Experiment sah das Ergebnis so aus, dass immer mehr Tage bis zur klinischen Heilung gebraucht wurden. Während es bei der ersten Versuchsgruppe schon in 15 bis 18 Tagen zur Heilung kam, dauerte der Heilungsvorgang bei der letzten 34 bis 44 Tage.

Aus diesen Ergebnissen kann der Schluss gezogen werden, dass die Pilzstämme, die in vivo wiederholt mit Griseofulvin in Berührung kommen, allmählich doch eine grössere Toleranzbreite entwickeln können.

2.1o. Infektion von Tieren mit resistenten bzw. nicht resistenten Stämmen

Wurden nun solche in vitro resistenter gewordenen Stämme zur experimentellen Tierinfektion verwendet, so ergab sich kein Unterschied gegenüber bereits primär griseofulvinempfindlichen Stämmen der gleichen Pilzart. Die Rückzüchtung des griseofulvinresistenten Stammes zeigte wieder eine erhöhte Empfindlichkeit gegen das Antibiotikum, Die induzierte Griseofulvinunempfindlichkeit war in vivo verlorengegangen (69).

Auch ROSENTHAL und WISE [135], THURNER [15o] und ITO [86] konnten an Hand ihrer Versuche mit resistenten Dermatophyten bestätigen, dass im klinischen Bild der Erkran-

kung keinerlei Differenzen auftraten, gleichgültig, ob die Infektion mit griseofulvinempfindlichen oder in vitro erhöht resistenten Dermatophyten vorgenommen worden war. Auch was die Dauer der Heilung anbetraf, konnten alle ausser ITO [86] keine Differenz in der Heilungsdauer feststellen. Auch von THURNER [150] und ROSENTHAL und WISE [135] wurde der Verlust der Resistenz durch Tierpassagen bestätigt. Von Interesse war die Beobachtung THURNER's [150], dass sich in vitro resistente Dermatophytenstämme herauszüchten liessen, die auch nach einer Passage über Meerschweinchen noch weitgehend unempfindlich gegen Griseofulvin waren. In diesem Falle lässt sich nach THURNER die in vitro entstandene Resistenz gegen das Antimykotikum nicht mehr als einfache Adaptation werten, sondern sie hat bereits den Charakter einer bleibenden Unempfindlichkeit.

2.11. Griseofulvinresistente Dermatophytenstämme beim Menschen

Während die relativ häufig vorkommende sogenannte "Resistenz in vivo" (131a) häufig nichts weiter ist als ein Versagen der Therapie durch äussere Umstände, wie Resorptionsstörungen im Darm, Durchblutungs- oder Wachstumsstörungen und meist nichts mit einer wirklichen Griseofulvinresistenz der Erreger zu tun hat, so konnte doch im Laufe der Jahre, seit das Griseofulvin im Handel ist, von drei Autoren (137, 115, 555) von einer allmählich steigenden Griseofulvinresistenz der Erreger in vivo und vitro berichtet werden.

ROTH [137] konnte bei 10 von 30 Stämmen, die von therapieresistenten Krankheitsherden gezüchtet wurden, eine verminderte Griseofulvinempfindlichkeit feststellen, die sich im Laufe der Griseofulvintherapie entwikkelt hatte. Die Durchschnittsempfindlichkeit von fünf

Mikrosporum canis-Stämmen war von einer Anfangsempfindlichkeit von 1,6 - 1,8 µg/ml auf 6,9 - 7,1 µg/ml, von zwei Epidermophyton floccosum-Stämmen von 2,2 - 2,4 µg/ml auf 7,4 - 7,6 µg/ml, von zwei Trichophyton rubrum-Stämmen von 1,4 - 1,6 µg/ml auf 4,5 - 4,7 µg/ml und von einem Trichophyton mentagrophytes-Stamm von 1,8 - 2,o µg/ml auf 3,6 - 3,8 µg Griseofulvin/ml gestiegen. Auch FISHER und Mitarbeiter berichten von einem Fall, bei dem es während der 18 Monate dauernden Behandlung bei einer Epidermophyton floccosum-Infektion zu einer Steigerung der Resistenz von 1,7 µg/ml auf 8 µg Griseofulvin pro ml kam, eine klinische Heilung konnte nicht erzielt werden.

MICHAELIDES und Mitarbeiter [115] beobachteten dagegen einen Fall einer Trichophyton tonsurans-Infektion, bei dem von Anfang an die klinische Resistenz der Erkrankung auffiel und bei der von Anfang an die Griseofulvinempfindlichkeit von normalerweise 7 µg/ml auf 2o µg/ml herabgesetzt war.

Andererseits konnten HILDICK-SMITH [83], GÖTZ [7o] und ROSENTHAL und WISE [135] bei Rezidiven, die während oder nach der Griseofulvinbehandlung auftraten, in keinem Falle eine erhöhte Griseofulvinempfindlichkeit in vitro gegenüber den Werten vor Beginn der Behandlung feststellen. Auch konnten ROSENTHAL und WISE [135] bei Patienten, die monatelang Griseofulvin eingenommen hatten, keine Resistenz der Erreger feststellen. Die untersuchten Stämme zeigten die gleiche Griseofulvinempfindlichkeit wie Stämme von Patienten, die nie Griseofulvin erhalten hatten.

Es liegen bisher nur vereinzelte systematische Untersuchungen zur Frage der Griseofulvinresistenz nach Art der Arbeit von ROSENTHAL und WISE [135] bei den verschiedenen Dermatophyten-Infektionen vor.

Wir versuchten deshalb, weitere Dermatophyten auf ihre Griseofulvinempfindlichkeit zu prüfen. Es wurden verschiedene Stämme von Patienten mit und ohne Griseofulvinbehandlung isoliert und getestet, um die Möglichkeit einer Resistenzbildung durch laufende Passagen auf Nährböden zu untersuchen.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material und Methodik der 1. Versuchsserie

Als Nährboden für alle Versuche benutzten wir den Hamburger Testagar (Grütz-Kimmig-Agar) in seiner Zusammensetzung: 18, o g Agar Agar der Fa. Merck, lo g Glucose, 5 g Pepton, 5 g Na Cl, 5 g Standard Nährbouillon, 6 g Glycerin, aqua destillata ad looo ml. Bevor der gelöste Nährboden verwendbar war, musste er an drei aufeinanderfolgenden Tagen mindestens 1/2 Stunde lang im Autoklaven sterilisiert werden. Erst dann war es möglich, ihn mit Griseofulvin zu versetzen.

Da die Löslichkeit des normalen pulverisierten Griseofulvins in Wasser sehr gering ist, verwendeten wir Dimethylformamid als Lösungsmittel. Bei der anfangs verwendeten 1%-igen Lösung kam es besonders bei den sehr empfindlichen Dermatophyten zu ausgeprägten Wachstumsstörungen, so dass sich bei einer daraufhin ausgeführten Lösungsmittel-Testserie eine o,5%-ige Dimethylformamidlösung als geeignete Lösungsmittelkonzentration erwies.

Der nach der 3. Sterilisation noch durch das Erhitzen flüssige Agar wurde nach weitgehender Abkühlung mit der vorher errechneten Menge des gelösten Griseofulvins versetzt. Bei unserer Versuchsserie verwendeten wir folgende Konzentrationen: o,5, 1,2,5,lo und 2o µg/ml eine Lösungsmittelkontrolle und Kontrolle. Um genügend griseofulvinhaltige Dimethylformamidlösung zur Verfügung zu haben, wurden 4o mg Griseofulvin in lo ml Dimethylformamid gelöst.

Tabellarisch erfasst, sieht eine solche Verdünnungsreihe folgendermaßen aus:

	0,5 γ	1 γ	2 γ	5 γ	10 γ	20 γ	LM-KO	KO
Agar	597 ml	597	597	597	597	597	597	597
DMF ml	2,925	2,85	2,7	2,25	1,5	-	3,0	-
0,4 % GF-Lsg in DMF	0,075	0,15	0,3	0,75	1,5	3,0	-	-

Zeichenerklärung:

KO : Kontrolle
LM-KO: Lösungsmittelkontrolle
DMF : Dimethylformamid

Um alle 30 Dermatophytenstämme durchtesten zu können, wurden 3 Versuchsserien mit je 10 Dermatophyten durchgeführt. Beim Giessen der Platten wurde mit der schwächsten Konzentration begonnen, um die in dem Kölbchen verbleibende Restsubstanz und somit die Fehlerquelle so niedrig wie möglich zu halten.

Bei den Vorversuchen hatte sich herausgestellt, dass man die zur mikroskopischen Betrachtung verwendeten Platten nicht länger als 3 Wochen für weitere Beobachtungen aufbewahren konnte. Die Kulturen wurden bei dem fortwährenden Öffnen durch die massive Anflugflora stark verunreinigt. So hatte es sich als sehr brauchbar erwiesen, gesonderte Kulturen nur für die mikroskopische Betrachtung zu verwenden, die später verworfen wurden. Beim Ausgiessen der Schalen wurde auf größtmögliche Sterilität geachtet. Bei der einen Versuchsserie führten wir die flächenhafte, bei der anderen die punktförmige (3 etwa gleichmäßig voneinander entfernte Punkte) Überimpfung

durch.

Nach dem Festwerden des Agars wurden die Nährböden mit den Teststämmen beimpft. Die Platten, die für die mikroskopische Betrachtung vorgesehen waren, wurden ebenfalls flächenhaft beimpft. Als Impfmaterial dienten folgende im Labor vorhandene Arten:

1. Trichophyton mentagrophytes variatio granulosum
2. Trichophyton mentagrophytes variatio lacticolor
3. Trichophyton mentagrophytes variatio persicolor
4. Trichophyton equinum
5. Trichophyton rubrum
6. Trichophyton tonsurans
7. Trichophyton soudanense
8. Trichophyton Schönleinii
9. Trichophyton Quinckeanum
10. Trichophyton concentricum
11. Trichophyton ferrugineum
12. Trichophyton violaceum
13. Trichophyton verrucosum
14. Trichophyton Megninii
15. Trichophyton gallinae
16. Trichophyton terrestre
17. Trichophyton yaoundei
18. Trichophyton kuryangei
19. Mikrosporum Audouinii
20. Mikrosporum canis
21. Mikrosporum gypseum
22. Mikrosporum Langeronii
23. Mikrosporum Rivalierii
24. Mikrosporum distortum
25. Mikrosporum nanum
26. Mikrosporum Cookei
27. Mikrosporum equinum
28. Mikrosporum Vanbreuseghemii
29. Epidermophyton floccosum
30. Keratinomyces Ajelloi
31. Als Schimmelpilz Cephalosporium acremonium.

Die Beurteilung der Reaktionserscheinungen der Hautpilze auf das antimykotische Agens erfolgte makroskopisch nach 1, 2 und 3 Wochen Wachstumsdauer bei Zimmertemperatur, während die lichtmikroskopische am 1., 2., 3. und 5. Tag nach der Beimpfung erfolgte. Für die Registrierung und Charakterisierung des jeweiligen Wachstumsstadiums bzw. des Hemmeffektes bei der flächenförmigen Aufimpfung benutzten wir folgende Symbole: (Nach Meinhof u. Lie Mie Bong (1964) [114])

++++ vollausgewachsener Impfstrich
+++ fast vollausgewachsener Impfstrich
++ deutlich sichtbares, jedoch stark eingeschränktes Wachstum
\+ geringes Wachstum
(+) nur an einzelnen Stellen des Impfstriches gerade noch erkennbares Wachstum
Ø kein Wachstum, totale Hemmung

Bei der punktförmigen Impfung wurde die wöchentliche Zuwachsrate in Form des Radius jedes einzelnen Herdes gemessen. Als endgültiger Wert diente das arithmetische Mittel dieser Radien. Die mikroskopische Betrachtung diente der Feststellung der morphologischen Veränderungen unter dem Einfluss der verschiedenen Griseofulvinkonzentrationen.

3.2. Material und Methodik der 2. Versuchsserie

In der 2. Versuchsserie wurden 7o Trichophyton-rubrum und 2o Trichophyton-mentagrophytes-Stämme, die frisch von unserem Patientengut isoliert worden waren, auf ihre Griseofulvinempfindlichkeit geprüft. Gleichzeitig wurde überprüft, ob bei den betroffenen Patienten bereits eine Griseofulvinbehandlung durchgeführt worden war. Ausserdem wurde während der Griseo-

fulvinbehandlung Haut- und Nagelmaterial der erkrankten Stellen abgenommen, um das Ansprechen der Therapie oder eine evtl. Änderung der Empfindlichkeit der Dermatophyten auf Griseofulvin festzustellen. Es wurden Nativpraeparate und Kulturen angesetzt.

Um eine, wenn auch nur geringe Beeinflussung durch das Lösungsmittel vollständig zu vermeiden, wurde bei sämtlichen Versuchen das Griseofulvin in aqua destillata gelöst. Wir verwendeten das Likuden M der Fa. Hoechst, das eine bessere Löslichkeit zeigte. Nach persönlicher Mitteilung der Fa. Hoechst lösen sich 12 mg Griseofulvin in 100 ml aqua destillata. Um eine vollständige Auflösung des Griseofulvins zu erhalten, wurde die Griseofulvin-Wasserlösung einige Male erhitzt, abgekühlt, anschliessend in erkaltetem Zustand durchfiltriert und dem Agar zugefügt, der dreimal im Autoklaven sterilisiert wurde. Es wurden insgesamt 100 Stämme durchgetestet. 10 mussten wegen Verunreinigung durch Hefen oder Schimmelpilze wiederholt werden. Wir verwendeten wieder die gleichen Griseofulvinkonzentrationen im Nährboden; gleichzeitig lief eine Kontrollkultur, die Lösungsmittelkontrolle entfiel. Wir verwendeten nur die punktförmige Überimpfung, da hierbei die Wachstumsdifferenzen genauer gemessen werden konnten. Sie unterlag nicht so sehr der individuellen Betrachtungsweise des Untersuchers wie die strichförmige. Die Untersuchungen wurden nach der in folgender Tabelle ersichtlichen Verdünnungsreihe durchgeführt:

	20 γ ml	10 γ ml	5 γ ml	2 γ ml	1 γ ml	0,5 γ ml	KO
20 γ haltiger Nährboden	800 ml	400 ml	200 ml	80 ml	40 ml	20 ml	-
normaler Nährboden	-	400 ml	600 ml	720 ml	760 ml	780 ml	800 ml

Für eine Versuchsreihe wurden je 800 ml verwendet.

Beim Ausgiessen der Petrischalen wurde auch hier, wie schon früher erwähnt, mit den niedrigsten Konzentrationen begonnen, um die Fehlerbreite möglichst niedrig zu halten. Nach dem Erkalten wurden die Nährböden mit dem Pilzmaterial punktförmig beimpft, Mit der gleichen Methode wurde bei allen Kulturen nach 1, 2 und 3 Wochen die radiale Zuwachsrate gemessen.

3.2.1. Vergleichende Versuche an drei Dermatophyten mit in Dimethylformamid und in aqua destillata gelöstem Griseofulvin

Um eine evtl. morphologische Beeinflussung durch das Lösungsmittel Dimethylformamid ausschliessen zu können, wurden die schon einmal unter Dimethylformamid untersuchten Dermatophyten Epidermophyton floccosum, Trichophyton concentricum und Mikrosporum Langeronii nun mit in aqua destillata gelöstem Griseofulvin am 1., 2., 3. und 5. Tage mikroskopisch untersucht.

3.3. Material und Methodik eines Züchtungsversuches griseofulvingewöhnter Dermatophyten

Nach 3-wöchigem Wachstum auf den mit steigenden Griseofulvinkonzentrationen versetzten Nährböden wurden die Dermatophyten auf Nährböden derjenigen Konzentration weiterverimpft, bei der sie in etwa den Wachstumsradius von 5 mm zeigten. Dieser erwies sich als eine gut zu erfassende Grösse. Einige hatten allerdings bei der niedrigsten Konzentration nach 3 Wochen den Wert von 5 mm noch nicht erreicht, während von anderen sehr unempfindlichen Pilzen auch bei höchster Konzentration keine Grösse unter 5 mm erreicht wurde. In diesen Fällen wurde jeweils die für den 5 mm Wachstumswert günstigste Konzentration ausge-

wählt. Durch diese Überimpfung auf einen Nährboden mit gleicher Konzentration sollte festgestellt werden, ob im Laufe der kommenden 3, 6 oder 9 Wochen der Radius von 5 mm überboten werden konnte und sich somit evtl. eine Griseofulvinunempfindlichkeit entwickeln kann.

Sowohl das Luftmycel als auch das vegetative Mycel wurden nach jeder Passage getrennt weiter verimpft, um eventuelle Unterschiede in der Resistenzbildung feststellen zu können. Jede drei Wochen dauernde Passage wurde wöchentlich auf ihre Zuwachsrate und eventuell sich bildende morphologische Veränderungen untersucht.

Auf einem griseofulvinfreien Nährboden lief jeweils eine Kontrollkultur mit, die von einem der durch Griseofulvin veränderten Stämme abgeimpft worden war. Ausserdem wurde nach der zweiten Passage von der Kontrollkultur wieder auf einen griseofulvinhaltigen Nährboden zurückgeimpft. Bei einigen Kulturen wurde auch noch eine vierte Passage durchgeführt.

Ausser Mikrosporum Cookei und Mikrosporum Audouinii konnten alle Dermatophytenarten auf die Fähigkeit einer Resistenzbildung in vitro durchgetestet werden. Die natürliche Griseofulvinempfindlichkeit bei Mikrosporum Cookei war so gering, dass eine weitere Erhöhung der Resistenz kaum zu erwarten war. Bei Mikrosporum Audouinii war die Griseofulvinempfindlichkeit so hochgradig, dass es mit den niedrigsten verwendeten Griseofulvinkonzentrationen nicht gelang, ein für die Weiterverimpfung geeignetes Wachstum zu erhalten.

4. Eigene Untersuchungen: Versuchsergebnisse

4.1. Mikromorphologische Veränderungen der Mycelien durch verschiedene Griseofulvinkonzentrationen nach unterschiedlicher Einwirkungsdauer

Die erste Versuchsreihe galt der Betrachtung der mikroskopischen Veränderungen der 3o Dermatophytenarten und eines Vergleichsstammes einer Schimmelpilzspezies, Cephalosporium acremonium.

Mikroskopische Beobachtungen am ersten Tag des Kulturwachstums

Am ersten Tag liess sich bereits bei sieben Dermatophyten (23,3 %) (Gruppe 1) ein Hemmeffekt des Griseofulvins feststellen. Während in den Kontrollkulturen gerade Keimschläuche gebildet wurden, zeigten die Kulturen auf griseofulvinhaltigen Nährböden bei Konzentrationen von 1 µg/ml und mehr nur angedeutete oder gar keine Keimung. Zu dieser Gruppe 1 gehörten folgende Dermatophyten:

Trichophyton soudanense
" violaceum
" Megninii
" terrestre
" rubrum
" Rivalierii
" mentagrophytes var. persicolor.

Bei den übrigen Dermatophyten (Gruppe 2) war am ersten Tage keine Griseofulvinwirkung festzustellen. Die Mehrzahl der Pilze war bei Griseofulvinzusatz zum Nährboden in gleicher Weise ausgekeimt wie in den Kontrollkulturen. In dieser Gruppe fanden sich die folgenden 15 Dermatophytenarten (6o %):

Gruppe 2

Trichophyton equinum
" tonsurans
" Schönleinii
" Quinckeanum
" verrucosum
" mentagrophytes var. granulosum
" " " lacticolor
" ferrugineum
" yaoundei
Mikrosporum canis
" distortum
" equinum
" Vanbreuseghemii
" gypseum
" Cookei
" Langeronii
Epidermophyton floccosum
Keratinomyces Ajelloi

Auch der Schimmelpilz Cephalosporium acremonium verhielt sich entsprechend der hier charakterisierten Gruppe.

Bei den übrigen fünf Dermatophyten (Gruppe 3) war eine Hemmwirkung des Griseofulvins am ersten Tag noch nicht zu beurteilen, da weder in den Versuchskulturen mit Griseofulvin noch in den Kontrollen die Keimung begonnen hatte. Es handelte sich hier um folgende Arten (16,6 %):

Gruppe 3

Trichophyton concentricum
" gallinae
" kuryangei
Mikrosporum Audouinii
" nanum

Mikroskopische Beobachtungen am zweiten Tag

Am zweiten Beobachtungstag war der Griseofulvineinfluß auf die meisten Mycelien deutlicher zu erkennen. Bei M. Audouinii war noch keine Wirkung zu sehen, weil dieser Pilz an diesem Tag erst auskeimte, bei T. gallinae war auch am zweiten Tag noch keine Auskeimung festzustellen. Die auffälligsten Veränderungen am zweiten Tag waren Wachstumsstörungen und Störungen der Hyphenmorphologie. Bei 12 der untersuchten Dermatophyten fanden wir den "curling effect", eine der bekanntesten Griseofulvinwirkungen. Voraussetzung war verständlicherweise eine ausreichende Hyphenlänge, damit dieser Effekt eintreten konnte. Bei folgenden Pilzen konnten wir den "curling effect" am zweiten Tag feststellen:

Tab. I

Trichophyton	equinum
"	Quinckeanum
"	violaceum
"	verrucosum
"	ferrugineum
"	yaoundei
"	mentagrophytes var. granulosum
Mikrosporum	distortum
"	equinum
"	Vanbreuseghemii
"	gypseum
"	Cookei

Auffallend war, dass diese Veränderungen bei den niedrigen Griseofulvinkonzentrationen auftraten.

Bei einem Teil der Pilze (s. Tab. II) kam es zu einer allgemeinen konzentrationsunabhängigen Wachstumshemmung ohne sonstige morphologische Veränderungen, während bei einem anderen Teil (s. Tab. III) eine

Wachstumshemmung nur bei sehr hohen Konzentrationen auftrat.

Tab. II

Konzentrationsunabhängige Wachstumshemmung durch Griseofulvin bei folgenden Dermatophyten:

Trichophyton	Schönleinii
"	terrestre
"	ferrugineum
"	kuryangei
"	mentagrophytes var. persicolor
Mikrosporum	Langeronii

Tab. III

Konzentrationsabhängige Wachstumshemmung durch Griseofulvin trat auf bei:

Dermatophyt		Niedrigste Griseofulvinkonzentration, bei der eine Wachstumshemmung beobachtet wurde
Trichophyton	equinum	1o - 2o µg/ml
"	concentricum	o,5- 2o µg/ml
"	tonsurans	2o µg/ml
"	soudanense	5 - 2o µg/ml
"	ferrugineum	1o - 2o µg/ml
"	yaoundei	5 - 2o µg/ml
"	rubrum	5 - 2o µg/ml
"	verrucosum	5 - 2o µg/ml
"	Quinckeanum	1o - 2o µg/ml
"	mentagrophytes var.persicolor	5 - 2o µg/ml
"	" " granulosum	0,5- 2o µg/ml
Mikrosporum	canis	2o µg/ml
"	nanum	1o - 2o µg/ml
"	equinum	1o - 2o µg/ml

Mikrosporum Vanbreuseghemii	1o - 2o µg/ml
" gypseum	2 - 2o µg/ml
" Cookei	2 - 2o µg/ml
" distortum	5 - 2o µg/ml
" Rivalierii	2 - 2o µg/ml
Epidermophyton floccosum	1o - 2o µg/ml

Tab. IV

Keine Wachstumshemmung im Vergleich zur Kontrollkultur zeigten:

Trichophyton mentagrophytes var. lacticolor
Keratinomyces Ajelloi
Cephalosporium acremonium

Keine Griseofulvinbeeinflussung, da am zweiten Tag erst ausgekeimt, zeigte:

Mikrosporum Audouinii

Am zweiten Tag noch keine Auskeimung zeigte:

Trichophyton gallinae.

Bei den sieben Dermatophyten, die bereits am ersten Tag einen Griseofulvineinfluss erkennen liessen, konnten am zweiten Beobachtungstage bereits differenziertere Schädigungen festgestellt werden.

So lag bei T. violaceum ein geschlängeltes Wachstum der Hyphen entsprechend dem "curling effect" vor. Dieser Effekt wurde bereits bei Konzentrationen von o,5 µg/ml sichtbar (s. Tab. I).

Bei T. rubrum, T. mentagrophytes var. persicolor, T. soudenense, T. Megninii und M. Rivalierii liess sich

eine konzentrationsabhängige Wachstumshemmung erkennen. T. terrestre zeigte dagegen zu diesem Zeitpunkt eine gleichmäßige Hemmung bei allen Konzentrationen.

Von den Pilzen, die am ersten Tag in der Kontrolle und unter Griseofulvineinwirkung noch eine gleichmäßige Auskeimung aufwiesen (s. Gruppe II), liess ein Teil am zweiten Tag bereits deutlicne Hemmeffekte durch Griseofulvin erkennen. Dazu gehörten:
T. tonsurans, T. Quinckeanum, T. verrucosum, T. mentagrophytes var. granulosum, T. yaoundei, M. equinum, M. canis, M. distortum, M. Vanbreuseghemii, M. gypseum, M. Cookei und E. floccosum. Sie zeigten am zweiten Tag eine konzentrationsabhängige Wachstumshemmung, während T. Schönleinii, T. ferrugineum und M. Langeronii eine konzentrationsunabhängige Wachstumshemmung zeigten.

Keine Wachstumshemmung durch Griseofulvin im Vergleich zur Kontrollkultur zeigten (s. Tab. IV):
T. mentagrophytes var. lacticolor, K. Ajelloi und der Schimmelpilz Cephalosporium acremonium.

Die Gruppe von Dermatophyten, bei der am ersten Tag weder in der Kontrolle noch unter Griseofulvin eine Keimung zu beobachten war (Gruppe III), verhielt sich am zweiten Tag folgendermaßen:
T. concentricum und M. nanum zeigten eine konzentrationsabhängige (s. Tab. III) und T. kuryangei eine konzentrationsunabhängige Wachstumshemmung (s. Tab. II). Keine Beeinflussung, weil gerade ausgekeimt, zeigte M. Audouinii (s. Tab. IV), und immer noch keine Auskeimung war bei T. gallinae (s. Tab. IV) zu sehen.

Abgesehen von der allgemeinen Wachstumshemmung und der Ausbildung des "curling effects" kam es bei einzelnen Dermatophyten zu weiteren morphologischen Veränderungen. M. Cookei und T. Quinckeanum zeigten kugelige Schwellungen

an den Hyphenenden bei Griseofulvinkonzentrationen von 5 bis 2o µg/ml. Ausserdem kam es bei letzteren zu einer auffällig starken Verzweigung der Hyphen auf den Nährböden mit höheren Konzentrationen. Während sich die Wachstumshemmung bei den meisten Mycelien in einer allgemeinen Verkürzung der Hyphen äusserte, kam es bei M. Vanbreuseghemii, T. yaoundeu und T. Quinckeanum zu einer walzenförmigen Anschwellung der normalerweise schlanken Hyphen.

Zur Ausbildung von Luftmycelien kam es bei o,5 µg/ml bei T. equinum, vereinzelt bei M. Cookei und M. Vanbreuseghemii. Auffällig an diesem Luftmycel war, dass es keinerlei Veränderungen in der Morphologie seiner Hyphen, verglichen mit dem Kontrollmycel, zeigte, während sich im vegetativen Mycel auffallende Veränderungen bemerkbar machten.

Mikroskopische Beobachtungen am dritten Tag

Bedingt durch die dreitägige Griseofulvineinwirkung war die Schädigung der Hyphen gerade in den hohen Konzentrationsbereichen besonders augenfällig. Groteske Hyphenverknäuelungen und Verzweigungen wechselten ab mit ballonartigen Anschwellungen am Hyphenende und Plasmaaustritten aus den aufgetriebenen Hyphen.

Bei T. soudanense, T. violaceum, T. terrestre, T. mentagrophytes var. persicolor (s. Gruppe 1) waren am dritten Tag neben der Ausbildung des "curling effects" und deutlichen Wachstumshemmungen, die sich in Form dicker, verunstalteter Hyphen zeigten, keine morphologischen Veränderungen zu beobachten. T. Megninii, T. rubrum und M. Rivalierii (s. Gruppe 1) nahmen insofern eine Sonderstellung ein, indem sie auf die Griseofulvinwirkung keinen "curling effect" ausbildeten. Hier war es schon bei den niedrigsten Konzentrationen zu einer sehr starken Schädi-

gung des Mycels in Form von kugeligen Anschwellungen und Plasmaaustritten gekommen, so dass ein Auswachsen zu längeren Hyphen unmöglich war.

Ein Teil der schon am ersten Tag auf Griseofulvin sehr empfindlich reagierenden Dermatophyten war somit am dritten Tag schon derart geschädigt, dass die Ausbildung eines "curling effects" nicht mehr möglich war, während ein anderer Teil, abgesehen vom "curling effect" und Wachstumshemmungen, keine weiteren morphologischen Schädigungen zeigte.

Unter den Pilzen (s. Gruppe 2), die am ersten Tag in der Kontrolle und unter Griseofulvineinwirkung noch eine gleichmäßige Auskeimung aufwiesen, kam es während des dritten Beobachtungstages schon zu einer deutlichen Reaktion.

Abgesehen von M. Langeronii zeigten alle Dermatophyten aus der Gruppe 2 in den niedrigsten Konzentrationsbereichen als Reaktion auf die Griseofulvineinwirkung den "curling effect". M. Langeronii reagierte jedoch derart empfindlich, dass es schon bei den niedrigsten Konzentrationen zu einer ausgeprägten Schädigung des Mycels in Form von kugeligen Anschwellungen und Plasmaaustritten gekommen war (s. Abb. I).

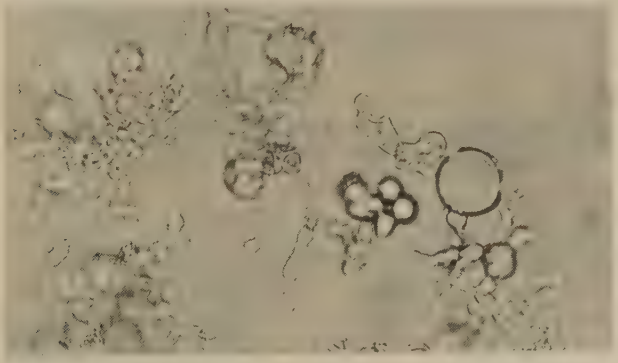


Abb. I M.Langeronii, Plasmaaustritt bei 2 µg/ml

Relativ unempfindlich reagierten T. mentagrophytes var. lacticolor, K. Ajelloi und M. gypseum. Hier war die Ausbildung des "curling effects" erst bei 1 µg/ml bzw. 2 µg/ml eingetreten.

Bei einigen Dermatophyten der Gruppe 2 traten bereits bei Konzentrationen, die zum "curling effect" führten, zusatzliche morphologische Veränderungen in Form von ballonartigen Anschwellungen am Hyphenende, starker Verunstaltung der Hyphen in Form klobiger Auftreibungen und Verkürzungen sowie Plasmaaustritten auf. Hierzu gehören T. tonsurans, T. Quinckeanum, T. verrucosum, T. kuryangei, T. ferrugineum, M. Vanbreuseghemii, M. gypseum und M. Cookei.

Bei T. equinum, T. Schönleinii, T. yaoundei, M. equinum, M. distortum und E. floccosum kam es erst oberhalb der Konzentrationen, die zum "curling effect" führten, zu den erwähnten, zusätzlichen morphologischen Veränderungen. Eine besonders starke Schädigung in Form von Plasmaaustritten im niedrigen Konzentrationsbereich zeigten T. mentagrophytes var. lacticolor, T. mentagrophytes var. granulosum und M. canis.

Trotz der starken Schädigung des vegetativen Mycels konnten folgende Pilze bei den unten angegebenen Konzentrationen ein ungeschädigtes Luftmycel bilden:

Tab. V

Dermatophyt		Griseofulvinkonzentration
Trichophyton	equinum	0,5 - 1 µg/ml
"	Schönleinii	0,5 - µg/ml
"	Quinckeanum	0,5 - 5 µg/ml
"	verrucosum	0,5 - 2 µg/ml
Mikrosporum	distortum	0,5 µg/ml
"	Vanbreuseghemii	0,5 - 1o µg/ml
"	gypseum	0,5 - 2o µg/ml
"	Cookei	0,5 - 5 µg/ml
Keratinomyces	Ajelloi	0,5 - 2o µg/ml

Bei M. distortum und M. Cookei kam es zu lokalisierten Anhäufungen von Conidien, die bei niedrigeren Griseofulvinkonzentrationen ein besonders ausgeprägtes Luftmycel ausbildeten. Wurde dieses Luftmycel so lang, daß es schliesslich in Kontakt mit dem Nährboden kam, hörte das gleichmäßige, zur Peripherie hin gerichtete Wachstum plötzlich auf. Ausgehend von diesem Kontaktpunkt wuchsen nun besenreiserartig viele, im Wachstum völlig ungeordnete, durch den "curling effect" veränderte Hyphen aus, die sich ungeordnet in alle Richtungen verzweigten. Bei nicht zu hoher Griseofulvinkonzentration im Nährboden konnten sich dann erneut Luftmycelien bilden, um den Vorgang noch einmal zu wiederholen (s. Abb. II).

Abb. II M. distortum bei 0,5 µg/ml, Kontakt des Luftmycels mit dem Nährboden

Mikroskopische Beobachtungen am fünften Tag

Während wir bei vielen Dermatophyten am fünften Tag das gleiche morphologische Bild wie am dritten Tag fanden,

war bei einem Teil der untersuchten Pilze die Schädigung der Mycelien weiter fortgeschritten und hatte auch die bisher weniger betroffenen Hyphen auf den Nährböden mit geringerem Griseofulvingehalt erfasst.

Bei folgenden Dermatophyten der Gruppe 1 war trotz der längeren Griseofulvineinwirkung keine weitere Schädigung der Mycelien festzustellen:
M. Rivalierii, T. soudanense, T. violaceum, T. Megninii und T. mentagrophytes var. persicolor.

Aus der Gruppe 2 gehören dazu:
M. canis, M. Langeronii, M. Cookei, T. verrucosum, T. ferrugineum, T. yaoundei, T. mentagrophytes var. granulosum, T. mentagrophytes var. lacticolor und K. Ajelloi.

Aus der Gruppe 3 gehören dazu:
M. Audouinii, M. nanum, T. concentricum, T. curyangei.

Ein Teil der Dermatophyten war bereits maximal geschädigt, wie T. Megninii, M. Langeronii und M. Rivalierii, so dass keine weiteren Veränderungen mehr möglich waren. Bei einem anderen Teil, wie T. mentagrophytes var. lacticolor und K. Ajelloi trat wegen der zu geringen Griseofulvinempfindlichkeit keine Änderung ein. Bei den restlichen untersuchten Dermatophyten kam es am fünften Beobachtungstag auch in niedrigen Konzentrationsbereichen zu weiteren schwerwiegenden Schädigungen der Hyphen. T. gallinae zeigte erst am fünften Tag eine intensive Auskeimung. Bei 0,5 µg/ml kam es zum "curling effect", während die Hyphen bei den höheren Konzentrationen, abgesehen von einem sehr stark verzweigten Wachstum, keine Veränderungen zeigten.

Cephalosporium acremonium war, wie auch an den vorhergehenden Tagen, durch Griseofulvin nicht beeinflusst worden.

Zusammenfassend liess sich bei diesen Beobachtungen feststellen, dass das Protoplasma der Pilzhyphen unter dem Einfluss des Griseofulvins stärker vakuolisiert und granuliert war als in den Kontrollkulturen (s. Abb. III).

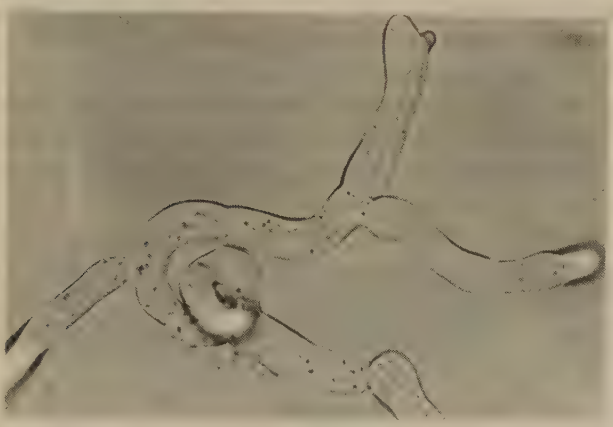


Abb. III M.Cookei, Körnelung im Protoplasma

Die einzelnen Hyphenzellen, die bei normal entwickeltem Mycel gleichbleibend lang und schlank waren, wurden durch das Antimykoticum in ihrem Längenwachstum gehemmt. Die einzelnen Zellwandsepten lagen dichter beieinander. Die Zellen waren aufgebläht, so dass ein zum Teil blasig entartetes Mycel mit unterschiedlich grossen Zellen entstand. Mit wachsender Dauer des Griseofulvineinflusses und steigender Konzentration nahm der Umfang der morphologischen Schädigung bei den empfindlichen Pilzen zu. In beträchtlicher Anzahl traten Kugelgebilde an den Hyphen auf, deren Grösse je nach Pilzart variierte.

Eine interessante Beobachtung bezüglich dieser ballonartigen Anschwellungen konnten wir bei Epidermophyton

floccosum im niedrigen Konzentrationsbereich machen. Während die anderen untersuchten Dermatophyten lediglich eine Kugel am Hyphenende ausbildeten, zeigten sich bei E. floccosum im weiteren Wachstumsverlauf an der Peripherie der Kugeln hyphenartige Vorwölbungen, die sich zu kurzen Hyphen weiter entwickelten und an deren Ende erneut blasenartige Anschwellungen entstanden; oder aber es reihte sich sofort wieder eine solche kugelartige Veränderung an die vorangehende. Auf diese Weise entstand eine perlenkettenartige Anordnung der Kugeln (s. Abb. IV).

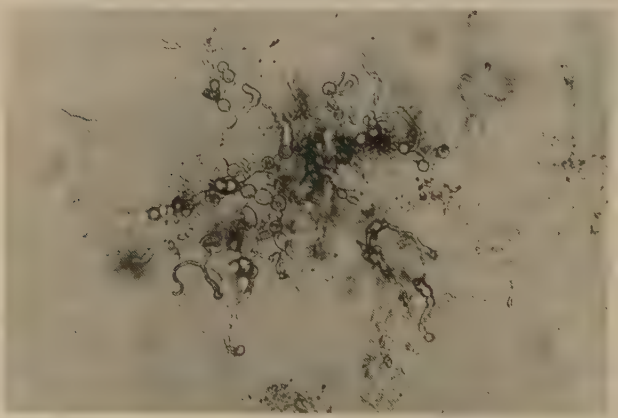


Abb. IV Perlenkettenartige Anordnung der Kugeln bei E. floccosum

Während viele dieser Kugeln einen klaren Inhalt hatten, konnte bei einigen auch ein granuliertes Plasma festgestellt werden. Diese kugelig aufgetriebenen Zellen neigten besonders zum Plasmaaustritt. Doch auch bei den weniger angeschwollenen Zellen der Hyphenspitzen sah man in vielen Fällen körnige Plasmaentleerungen in die Umgebung.

In Bezug auf die Stärke der mikroskopischen Veränderungen gehören T. Megninii, T. rubrum, M. Langeronii, M. Rivalierii und M. Audouinii zu den griseofulvinempfindlichsten Dermatophyten. T. mentagrophytes var. lacticolor, M. gypseum und K. Ajelloi antworteten erst bei einer viel höheren Griseofulvinkonzentration mit einer morphologischen Veränderung der Hyphen.

4.2. Mikromorphologische Veränderungen, hervorgerufen durch Dimethylformamid

Bei einem grossen Prozentsatz, besonders der empfindlicheren Dermatophyten, kam es durch das Lösungsmittel Dimethylformamid zum Teil zu ausgeprägten morphologischen Veränderungen wie "curling effect" und Wachstumshemmung. Bei M. Langeronii kam es sogar zu Plasmaaustritten, so dass es anfangs so schien, als seien die bei niederen Griseofulvinkonzentrationen vorkommenden Veränderungen Effekte des Dimethylformamids. Durch Prüfungen mit in aqua destillata gelöstem Griseofulvin kam es aber bei allen Griseofulvinkonzentrationen zu den gleichen Veränderungen. Folglich konnte man die entstandenen Veränderungen als griseofulvinspezifisch ansehen.

4.3. Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration bei strichförmiger Beimpfung des Nährbodens

Im ganzen betrachtet, liess sich makroskopisch eine unterschiedliche, durch die ansteigenden Griseofulvinkonzentrationen und die verschiedene Empfindlichkeit der Dermatophyten bedingte Wachstumshemmung feststellen. In der ersten, zweiten und dritten Woche gelang es einer zunehmenden Anzahl von Dermatophyten bei den in der folgenden Tabelle VI angegebenen Konzentrationen zu wachsen.

Tab. VI

Bei 0,5 µg/ml wuchsen	1.Woche 96,6 % 2.Woche 96,6 % 3.Woche 96,6 %
Bei 1 µg/ml wuchsen	1.Woche 73,3 % 2.Woche 9o % 3.Woche 93,3 %
Bei 2 µg/ml wuchsen	1.Woche 6o % 2.Woche 66,6 % 3.Woche 86,6 %
Bei 5 µg/ml wuchsen	1.Woche 33,3 % 2.Woche 53,3 % 3.Woche 56,6 %
Bei 1o µg/ml wuchsen	1.Woche 13,3 % 2.Woche 23,3 % 3.Woche 43,3 %
Bei 2o µg/ml wuchsen	1.Woche 1o % 2.Woche 13,3 % 3.Woche 2o %

Die Anzahl der Pilze, die durch Griseofulvin vollständig gehemmt wurden, verringerte sich mit der Abnahme der Griseofulvinkonzentration. Ausserdem verkleinerte sich diese Zahl mit zunehmender Einwirkungsdauer.

Während M. Audouinii bei keiner der verwendeten Griseofulvinkonzentrationen auskeimen konnte, sah man bei T. mentagrophytes var. lacticolor, K. Ajelloi und M. Cookei bei einer Griseofulvinkonzentration von 20 µg/ml doch ein deutliches, wenn auch gegenüber der Kontrolle gehemmtes Wachstum in der ersten Woche, bei M. gypseum in der zweiten und T. mentagrophytes var. persicolor in der dritten Woche. An Hand der folgenden Tabellen ist zu ersehen, wie sich bei einem Teil der Dermatophyten die minimale Hemmkonzentration (die Konzentration, bei der das Wachstum gerade vollständig gehemmt wird) in Abhängigkeit von der Beobachtungszeit ändert (s.Tab.VIII und IX). Bei einem anderen Teil ist jedoch die minimale Hemmkonzentration gleichbleibend und steht in keiner Beziehung zur Wirkungsdauer des Griseofulvins (s.Tab.VII).

Minimale Hemmkonzentrationen unter mehrwöchiger Griseofulvineinwirkung.

Gleichbleibende minimale Hemmkonzentration im Verlauf von drei Wochen sahen wir bei:

Tab. VII

	1.Wo.	2.Wo.	3.Wo.	
T. kuryangei	5	5	5	µg/ml
T. Megninii	1	1	1	µg/ml
T. soudanense	2	2	2	µg/ml
T. gallinae	1o	1o	1o	µg/ml
T. mentagrophytes var. persicolor	1o	1o	1o	µg/ml
T. terrestre	2o	2o	2o	µg/ml
T. mentagrophytes var. lacticolor	2o	2o	2o	µg/ml
M. Audouinii	o,5	o,5	o,5	µg/ml
M. nanum	2	2	2	µg/ml
M. distortum	1o	1o	1o	µg/ml
M. Cookei	2o	2o	2o	µg/ml
E. floccosum	5	5	5	µg/ml
K. Ajelloi	2o	2o	2o	µg/ml

Geringe Änderung der minimalen Hemmkonzentration im Verlauf von drei Wochen (eine Konzentrationsstufe) zeigten:

Tab. VIII

	1.Wo.	2.Wo.	3.Wo.	
T. ferrugineum	1	2	2	µg/ml
T. concentricum	2	2	5	µg/ml
T. rubrum	1o	1o	2o	µg/ml
M. Langeronii	o,5	1	1	µg/ml
M. equinum	2	2	5	µg/ml

Stärkere Änderung der minimalen Hemmkonzentration im Verlauf von drei Wochen (zwei Konzentrationsstufen und mehr) zeigten:

Tab. IX

	1.Wo.	2.Wo.	3.Wo.	
T. equinum	1	2	5	µg/ml
T. yaoundei	1	2	5	µg/ml
T. tonsurans	1	1o	1o	µg/ml
T. Schönleinii	2	1o	1o	µg/ml
T. mentagrophytes var. granulosum	5	2o	2o	µg/ml
T. Quinckeanum	5	2o	2o	µg/ml
T. violaceum	5	2o	2o	µg/ml
T. verrucosum	5	2o	2o	µg/ml
M. Rivalierii	o,5	5	5	µg/ml
M. Vanbreuseghemii	5	1o	1o	µg/ml
M. canis	5	2o	2o	µg/ml

4.4. Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration bei punktförmigen Überimpfungen

Bei der punktförmigen Überimpfung liess sich ebenfalls feststellen, dass bei einem Teil der Dermatophyten eine Abhängigkeit zwischen der Wachstumshemmung des Griseofulvins und dem Zeitpunkt der Ablesung besteht. Bei diesem steigt die minimale Hemmkonzentration mit zunehmender Einwirkungsdauer des Griseofulvins. Abgesehen von einzelnen Abweichungen konnten wir bei der flächenhaften und punktförmigen Überimpfung annähernd gleiche Ergebnisse in Bezug auf die minimale Hemmkonzentration erzielen.

Vom makroskopisch-morphologischen Aspekt her kam es durch die Griseofulvineinwirkung zu keinerlei schwerwiegenden Veränderungen. Auffallend war nur, dass bei einem grossen Teil der Dermatophyten im Gegensatz zur Kontroll-

kultur die Pilze zwar in ihrem flächenhaften Wachstum durch Griseofulvin gehemmt wurden, dafür aber alle mehr an Höhe zunahmen, so dass die Kulturen im ganzen dicker erschienen.

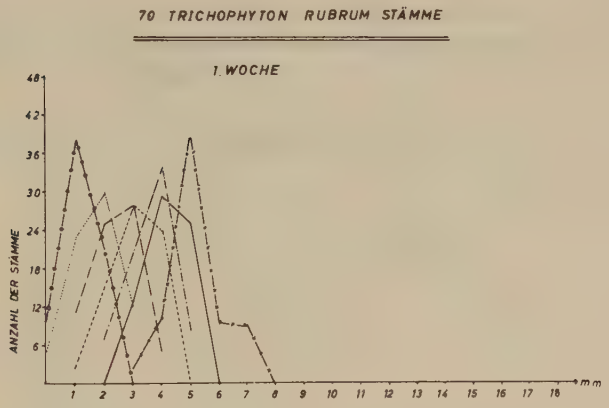
Bei M. Cookei konnten wir mit steigender Griseofulvinkonzentration eine Abnahme der violetten Farbstoffbildung beobachten.

4.5. Die Griseofulvinempfindlichkeit von 7o Trichophyton rubrum- und 2o Trichophyton mentagrophytes-Stämmen

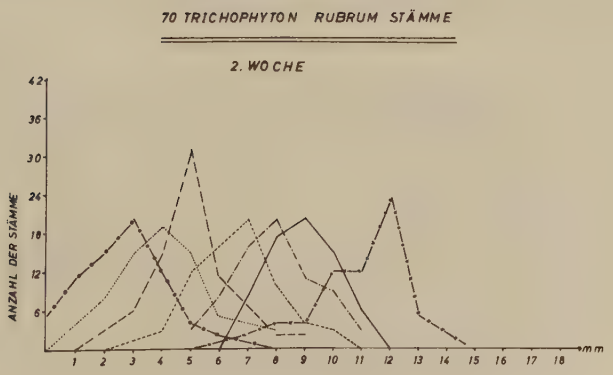
Eines der bemerkenswertesten Ergebnisse unserer Testungen war, dass keiner der Stämme eine auffallende Griseofulvinunempfindlichkeit zeigte, weder bei denjenigen Patienten, die niemals Griseofulvin eingenommen hatten, noch bei denen, die mit Griseofulvin behandelt worden waren. An Hand der Kurven ist ersichtlich, dass die Griseofulvinempfindlichkeit und somit der Wachstumsradius der einzelnen Stämme in gewissen Breiten streut. Mit zunehmender Beobachtungsdauer nahm das Wachstum, wie auch schon bei den verschiedenen Dermatophytenarten beobachtet wurde, zu, ebenso die Zahl derer, die bei den höchsten Griseofulvinkonzentrationen wuchsen. T. mentagrophytes zeigte im Prinzip das gleiche Verhalten wie T. rubrum, nur dass bei ersterem die allgemeine Wachstumstendenz sowohl bei der Kontrolle als auch bei den einzelnen Griseofulvinkonzentrationen intensiver war. Der Durchmesser der Kulturen nahm von der schwächsten bis hin zur stärksten Griseofulvinkonzentration ab. Auch bei den höchsten Griseofulvinkonzentrationen war noch ein Wachstum zu verzeichnen, jedoch in viel geringerem Maße als bei den niedrigen Konzentrationen.

Die folgenden Tabellen X-XV stellen die Progredienz des Wachstums der 7o T. rubrum- und 2o T. mentagrophytes-Stämme in der ersten, zweiten und dritten Woche bei den verschiedenen Griseofulvinkonzentrationen dar. T.rubrum und T. mentagrophytes sind getrennt dargestellt.

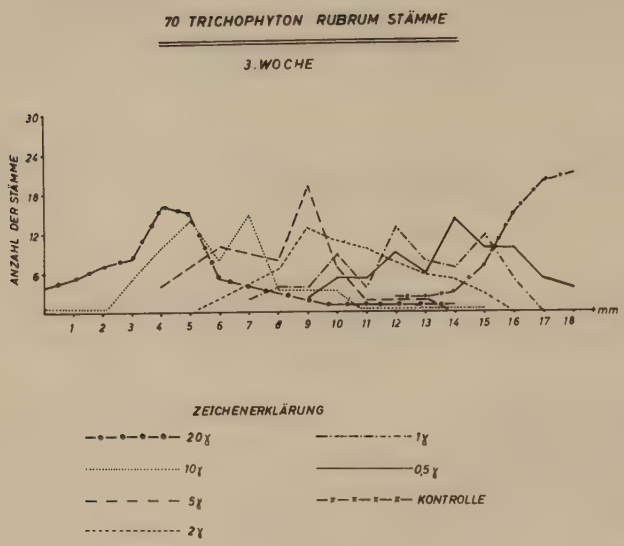
Tab. X



Tab. XI



Tab. XII



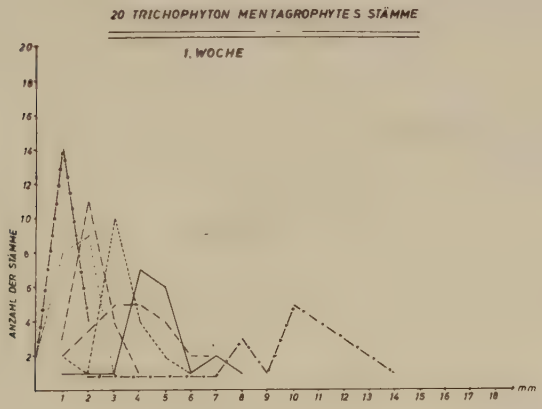
Bei T. rubrum zeigten die Kulturen in der ersten Woche noch eine verhältnismäßig geringe Wachstumstendenz. Das Häufigkeitsmaximum der griseofulvinfreien Kontrollkultur lag bei 5,1 mm Radius, dasjenige der auf dem Nährboden mit 2o µg/ml wachsenden Dermatophyten bei 1,o mm. Die dazwischen liegenden Konzentrationen nahmen eine Mittellage ein.

In der zweiten Woche veränderte sich bei T. rubrum das gesamte Wachstum. Trotz der länger dauernden Griseofulvineinwirkung nahmen alle Kulturen im Radius zu. Das Häufigkeitsmaximum der Kontrollkultur lag bei 12 mm Radius, das der Kulturen mit 2o ug/ml Griseofulvingehalt bei 3 mm Radius. Die dazwischen liegenden Konzentrationen lagen zwischen diesen beiden Extremen.

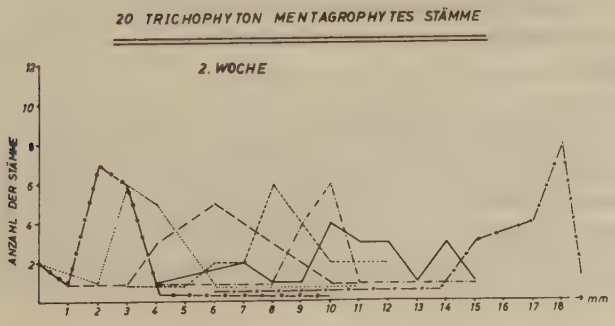
In der dritten Woche hatte sich das klare Bild etwas verwischt, das Wachstumsverhältnis der einzelnen Konzentrationen zueinander war jedoch geblieben. Das Häufigkeitsmaximum der Kontrollkultur lag bei 18 mm Radius, der Radius der Kultur mit 2o µg/ml Griseofulvingehalt hatte sich in einen anderen Bereich verschoben und lag bei 4 mm Radius.

Es folgt die Darstellung und Beschreibung des Verhaltens der 2o T. mentagrophytes-Stämme während der dreiwöchigen Beobachtungszeit.

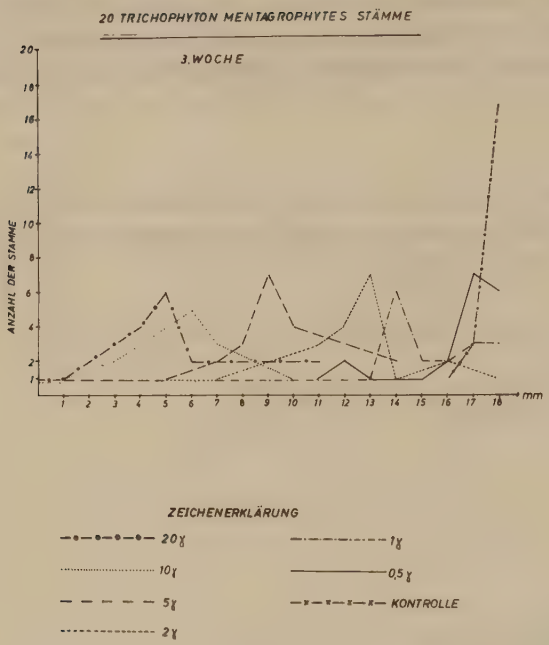
Tab. XIII



Tab. XIV



Tab. XV



In der ersten Woche lag bei T. mentagrophytes das Häufigkeitsmaximum der griseofulvinfreien Kontrollkultur bei 1o mm Radius, die Häufigkeitsmaxima sämtlicher Griseofulvinkonzentrationen entsprachen etwa denen von T. rubrum.

In der zweiten Woche liess T. mentagrophytes bei der Kontrollkultur bereits eine erhebliche Streuung der Werte erkennen. Das Maximum lag bei 18 mm Radius. Die Mehrzahl der Stämme zeigte bei der Konzentration von 2o µg/ml Griseofulvin ein Wachstum von 2 mm Radius. Die dazwischen

liegenden Kulturen wiesen alle in Bezug auf die erste Woche eine allmähliche Wachstumszunahme auf.

Die dritte Woche zeigte bei T. mentagrophytes etwa die gleichen Veränderungen wie bei T. rubrum. Bei 2o µg/ml Griseofulvin wuchsen die meisten Stämme 5 mm im Radius, bei der Kontrollkultur 18 mm im Radius. Das Häufigkeitsmaximum der einzelnen Kurven hatte sich im Laufe der drei Wochen allmählich in den Bereich grösserer Radien verschoben.

Zusammenfassend ist an Hand der Kurven zu sagen, dass auch bei stärkster Griseofulvinkonzentration das Pilzwachstum nicht völlig sistierte. Es wurde jedoch sehr stark gehemmt. Mit geringer werdender Konzentration nahm die Wachstumshemmung durch das Griseofulvin entsprechend ab. Die Hemmung des Pilzwachstums wurde umso deutlicher, je länger das Antimykotikum einwirkte. Das traf jedoch nicht bei allen Stämmen von T. mentagrophytes und T. rubrum zu. Bei einigen blieb die minimale Hemmkonzentration konstant unabhängig von der längeren Griseofulvineinwirkungsdauer (s. Tab. VII). Bei einigen zeigten sich nur ganz geringgradige Abweichungen im Verlauf der drei Wochen. Durch diese verschiedenartige Reaktionsweise der Dermatophyten lässt sich auch die in den drei Wochen beobachtete zunehmende Streuung der Hemmwerte erklären.

Bei dem Versuch, durch Kontrolluntersuchungen bei griseofulvinbehandelten Patienten Dermatophyten zu isolieren, die unter der Behandlung möglicherweise eine Resistenz entwickelt hatten, gelang nur in einem Fall die Züchtung von T. rubrum. Bei weiteren acht Patienten waren die Pilze zwar in Nativpräparaten nachzuweisen, die Kulturen blieben jedoch steril. Zum Teil war in diesen positiven Nativpräparaten der von den in vitro Versuchen bekannte "curling effect" festzustellen. Die

Abbildung V zeigt diese Veränderungen des locken-artigen Wachstums bei einer Patientin, die bis zu diesem Zeitpunkt ca. 500 Tabletten Griseofulvin erhalten hatte.

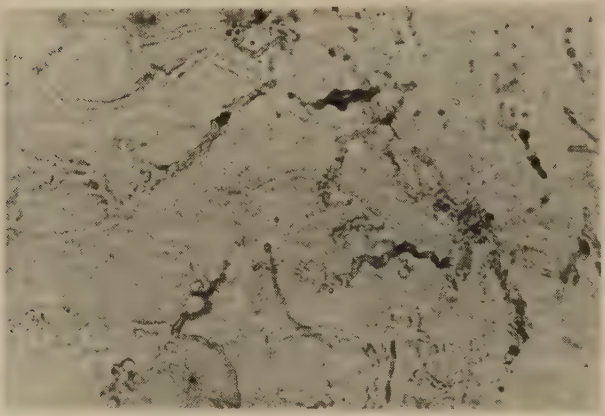


Abb. V "curling effect" in einem Nativpräparat

Der unter der Griseofulvinbehandlung isolierte Trichophyton-rubrum-Stamm wurde von einer Patientin mit einer anscheinend therapieresistenten Onychomykose der Fingernägel erhalten. Vergleichende Testungen des vor der Behandlung isolierten und des später gezüchteten Stammes ergaben keinerlei Unterschiede in der Griseofulvinempfindlichkeit. Beide Stämme waren in hohem Maße gegen Griseofulvin sensibel.

4.6. Versuch der experimentellen Erzeugung griseofulvingewöhnter- bzw. griseofulvinresistenter Stämme

Zur Prüfung einer eventuellen Griseofulvinresistenz wurde die Zunahme der Radien der Kolonien im Vergleich

zu den in den früheren Versuchsserien gemessenen Radien bei gleicher Expositionszeit untersucht. Durch fortlaufende Passagen auf immer wieder frisch hergestellten griseofulvinhaltigen Nährböden liess sich bei vielen Dermatophyten eine partielle Resistenz erzeugen. Die einzelnen Arten verhielten sich hierbei allerdings unterschiedlich.

Bei 17 der 28 getesteten Dermatophytenarten entwickelte sich im Laufe von drei bzw. vier dreiwöchigen Passagen eine Zunahme des Radius um 2-14 mm, bezogen auf die Ausgangskultur, die im Durchschnitt 5 mm Radius aufwies. Das bedeutet, dass sich folgende 17 Dermatophytenarten im Laufe dieser Wochen mehr oder weniger stark an Griseofulvin gewöhnt hatten. Zu diesen 17 Dermatophyten gehören:

Tab. XVI

Trichophyton	Megninii
"	tonsurans
"	ferrugineum
"	gallinae
"	rubrum
"	soudanense
"	mentagrophytes var. granulosum
"	" " persicolor
"	Quinckeanum
Mikrosporum	Vanbreuseghemii
"	distortum
"	Langeronii
"	gypseum
"	canis
"	Rivalierii
Keratinomyces	Ajelloi
Epidermophyton	floccosum

Die sieben folgenden Dermatophyten hatten nach drei Passagen nur um 1 mm an Wachstum zugenommen:

Tab. XVII

Trichophyton	yaoundei
"	violaceum
"	equinum
"	Schönleinii
"	concentricum
"	terrestre
Mikrosporum	equinum

Keine Wachstumszunahme zeigten die folgenden Dermatophyten:

Tab. XVIII

Trichophyton	kuryangei
"	verrucosum
"	mentagrophytes var. lacticolor
Mikrosporum	nanum

Während von allen Kulturen, die insgesamt um 2 und mehr mm Radius während der Passagen zugenommen hatten, schon in der ersten Passage der Ausgangswert erreicht und überschritten worden war, war dies von den sieben (s. Tab. XVII), die insgesamt den Ausgangswert nur um 1 mm überschritten hatten, nur bei T. Schönleinii, T. terrestre, T. violaceum und M. equinum der Fall.

Um Unterschiede in der Resistenzbildung des vegetativen Mycels und Luftmycels feststellen zu können, wurden beide getrennt weiterverimpft. Obwohl durch Griseofulvin in seiner Morphologie nicht geschädigt, zeigte das Luftmycel bei den unten zu erwähnenden Stämmen die gleichen Wachstumseigenschaften wie das vegetative Mycel. Das Luftmycel wurde durch Griseofulvin in seinem Wachstum

gehemmt, zeigte aber im Laufe der Passagen eine allmähliche Zunahme seines Durchmessers, die sich von der des vegetativen Mycels nicht unterschied. Die Resistenzzunahme beschränkte sich also nicht auf die Myceianteile, die direkten Kontakt mit dem Griseofulvin hatten.

Ausser bei T. verrucosum, T. mentagrophytes var. lacticolor, T. kuryangei und M. nanum war bei allen Dermatophyten sowohl bei dem Luft- als auch bei dem vegetativen Mycel eine zunehmende Gewöhnung an Griseofulvin in Form einer allmählichen Wachstumszunahme während der verschiedenen Passagen festzustellen.

Zur Klärung der Frage, ob die erworbene Griseofulvinresistenz anschliessend wieder verloren gehen kann, wurden die durch mehrere Passagen an Griseofulvin gewöhnten Dermatophyten auf griseofulvinfreie Nährböden verimpft. Nach dreiwöchigem Wachstum auf diesem griseofulvinfreien Medium wurde erneut eine Resistenzbestimmung durchgeführt. Hierbei zeigte sich (s. Tab. XIX), dass ein Teil der Dermatophyten noch nicht die ursprüngliche Griseofulvinempfindlichkeit zurückgewonnen hatte. Eine Änderung der erworbenen Resistenz war jedoch festzustellen.

Tab. XIX

Überschreitung des Ausgangswertes nach dreiwöchiger Passage über griseofulvinfreie Nährböden

T. mentagrophytes var. persicolor	um 8 mm
T. tonsurans	um 8 mm
T. gallinae	um 6 mm
T. rubrum	um 6 mm
M. distortum	um 6 mm
E. floccosum	um 6 mm
T. Megninii	um 5 mm

T. ferrugineum	um 5 mm
T. mentagrophytes var. granulosum	um 5 mm
M. canis	um 5 mm
M. Rivalierii	um 3 mm
T. soudanense	um 2 mm
T. Schönleinii	um 2 mm
T. Quinckeanum	um 2 mm
M. Vanbreuseghemii	um 1 mm
M. gypseum	um 1 mm
T. terrestre	um 1 mm
T. violaceum	um 1 mm
T. concentricum	um 1 mm
M. equinum	um 1 mm
M. Langeronii	um 1 mm
K. Ajelloi	um 1 mm

Bei den in der folgenden Tabelle XX zusammengefassten Dermatophyten war es nicht gelungen, durch Passagen eine Griseofulvinresistenz zu erzeugen. Sie zeigten auch nach der Passage über ein griseofulvinfreies Medium keine Unterschiede zu den Ausgangsbefunden.

Tab. XX

Keine Unterschiede zu den Ausgangswerten nach Passagen über griseofulvinfreie Nährböden zeigten:

Trichophyton	yaoundei
"	equinum
"	kuryangei
"	mentagrophytes var. lacticolor
"	verrucosum
Mikrosporum	nanum

Die Untersuchungen haben somit ergeben, dass eine

temporäre Entwicklung einer zumindest partiellen Griseofulvinresistenz möglich ist. Diese Resistenz beschränkt sich nicht nur auf das geschädigte Mycel, sondern geht auch in ungeschädigte Anteile des Mycels über. Die Resistenz ist damit nicht an den unmittelbaren Kontakt mit Griseofulvin gebunden.

Die Griseofulvinresistenz liess sich bei einem Teil der Pilze auch nach einer Passage auf griseofulvinfreiem Nährboden nachweisen, hatte jedoch im Vergleich zu den Voruntersuchungen bereits abgenommen.

Diskussion der Ergebnisse

An Hand unserer Untersuchungen konnten wir nachweisen, dass alle von uns geprüften Dermatophyten eine je nach Art unterschiedliche Griseofulvinempfindlichkeit aufweisen. Auch die Arten, die die geringste Sensibilität besitzen, sind wesentlich empfindlicher als beispielsweise der fakultativ pathogene Schimmelpilz Cephalosporium acremonium. Die Griseofulvinschädigung der Dermatophyten liess sich in vitro auf unterschiedliche Weise nachweisen. Die ersten sichtbaren Schädigungen waren nur mikroskopisch festzustellen. Auch hier bestanden deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Arten.

Die mikroskopischen Beobachtungen des ersten Tages der Züchtung zeigten, dass bei 6o % der 3o Dermatophyten keine Griseofulvinwirkung festzustellen war. Alle Pilze waren, verglichen mit den Kontrollkulturen, in gleicher Weise ausgekeimt. Bei 23,3 % war bereits eine hemmende Wirkung durch das Griseofulvin zu erkennen, und bei 16,6 % war es noch nicht zu einer Auskeimung gekommen. Diese Ergebnisse gehen in etwa mit den Beobachtungen von BÖHME und ZIEGLER [23] konform, die erst nach einer Inkubationszeit von einhalb bis zwei Tagen nach dem Auskeimen auf einem griseofulvinhaltigen Nährboden morphologische Veränderungen der Mycelien feststellen konnten.

Während bei 6o % die Inkubationszeit länger als einen Tag dauerte, musste sie bei 23,3 % schon innerhalb des ersten Tages liegen, da bereits am ersten Tag morphologische Veränderungen in Form einer Wachstums- bzw. Auskeimungshemmung bestanden. Bei den 16,6 % nicht ausgekeimten Dermatophyten handelt es sich, verglichen mit den Kontrollkulturen, um eine individuell bedingte spätere Auskeimung.

Am zweiten Beobachtungstag war der Griseofulvineinfluss auf die Mycelien schon viel ausgeprägter und differenzierter. Es wurden bereits die individuellen Fähigkeiten der einzelnen Dermatophyten, entweder mit einer Wachstumshemmung oder einem lockenartigen Wachstum zu reagieren, deutlich. In den darauf folgenden Beobachtungstagen nahm die Schädigung der Mycelien durch Griseofulvin in verstärktem Maße zu. Als derartige Schädigungen durch das Antimykotikum Griseofulvin waren anzusehen:

1. Die Hemmung der Auskeimung
   (In der Kontrollkultur kam es zur Auskeimung, in der Versuchskultur nicht)
2. die Hemmung des Längenwachstums
   (Die Keimschläuche waren im Versuch kürzer als in der Kontrolle)
3. Änderung der Wachstumsrichtung im Sinne des "curling effects"
4. vermehrte Ausbildung von Verzweigungen
5. Destruktionen des Mycels in Form von Auftreibungen, Plasmaaustritten und völliger Verklumpung der Hyphen.

Die Feststellungen dieser morphologischen Veränderungen stimmen mit Beobachtungen vieler anderer Autoren überein (7, 6, 24, 26, 81, 9o, 91, 123).

Im Prinzip stellen die genannten Schädigungen eine graduelle Skala dar, an der man schwächere und stärkere Griseofulvineinflüsse ablesen kann. Primär weniger sensible Dermatophyten zeigten die Schädigungen erst bei höherer Griseofulvinkonzentration, empfindlichere Pilze wurden schon bei niederen Konzentrationen so geschädigt, dass stärkere Veränderungen sichtbar wurden. Einschränkend muss allerdings gesagt werden, dass bei bestimmten Dermatophyten gelegentlich einige Veränderungen wie "curling effect" und blasige Auftreibungen gleich-

zeitig auftraten. Hierzu gehören: T. tonsurans, T. Quinckeanum, T. verrucosum, T. kuryangei, T. ferrugineum, M. Vanbreuseghemii, M. gypseum und M. Cookei.

Die individuelle Empfindlichkeit der einzelnen Dermatophyten auf Griseofulvin ist der Hauptfaktor, der für die sehr unterschiedlichen Versuchsergebnisse verantwortlich ist. Während einige der Hyphomyceten, wie T. Megninii, T. rubrum, M. Langeronii, M. Rivalierii und M. Audouinii schon bei niedrigsten Konzentrationen stärkste morphologische Veränderungen zeigten, antworteten T. mentagrophytes var. lacticolor, M. gypseum und K. Ajelloi erst bei einer viel höheren Griseofulvinkonzentration mit einer morphologischen Veränderung der Hyphen.

Schon am zweiten Tag der mikroskopischen Betrachtung wurde im Bereich der niedrigsten Griseofulvinkonzentrationen bei einzelnen Dermatophyten, wie T. equinum, M. Cookei und M. Vanbreuseghemii die Ausbildung von Luftmycelien bemerkt. Trotz der auffallenden Veränderungen des vegetativen Mycels zeigte dieses Luftmycel völlig normales Wachstum. Die gleichen Beobachtungen werden von verschiedenen Autoren beschrieben (1, 6, 23, 24, 26, 75). Im Laufe der weiteren Beobachtungstage nahm die Zahl der Dermatophyten, die ein Luftmycel ausbildeten, verstärkt zu (s.Tab. V).

Besonders bei M. distortum und M. Cookei konnten wir im niedrigen Konzentrationsbereich ein ausgeprägtes Luftmycel feststellen. Beim Kontakt dieses Mycels mit dem Nährboden hörte das gleichmäßige, zur Peripherie hin gerichtete Wachstum plötzlich auf. Ausgehend von diesem Kontaktpunkt wuchsen nun besenreiserartig viele im Wachstum ungeordnete, durch den "curling effect" veränderte Hyphen aus, die sich in alle Richtungen hin

verzweigend, ausbreiteten. Bei nicht zu hohen Griseofulvinkonzentrationen im Medium konnten sich erneut Luftmycelien bilden, um diesen Vorgang noch einmal zu wiederholen. Ähnliche Beobachtungen wurden von einigen Autoren (7) gemacht. Sie nannten diese Art der Ausbreitungsmöglichkeit den "stolon-type" (Sprössling-Typus).

Diese Beobachtung zeigt, dass das Griseofulvin nur am Orte des Kontaktes mit dem Mycel, also am vegetativen, im Nährboden wachsenden Mycel, eine schädigende Wirkung hat. Das Luftmycel bleibt weitgehend unbeeinflusst.

Bei der Bildung des Luftmycels spielt die Griseofulvinkonzentration des Nährbodens eine ausschlaggebende Rolle. Bei sehr hohen Konzentrationen wird das vegetative Mycel zu stark geschädigt, um noch Luftmycelien bilden zu können. Nur bei weniger empfindlichen Dermatophyten, wie K. Ajelloi und M. gypseum ist eine Luftmycelbildung unter einer Griseofulvinkonzentration bis zu 2o µg/ml Nährboden möglich.

Der von vielen Autoren (7, 24, 26, 131) als häufigste Griseofulvinveränderung bezeichnete "curling effect" konnte auch von uns, abgesehen von einigen Ausnahmen, bei allen übrigen Dermatophyten in einem Konzentrationsbereich von o,5 - 5,o µg/ml festgestellt werden. Zu den Ausnahmen gehörten die sehr empfindlichen Dermatophyten T. Megninii, T. rubrum, M. Langeronii, M. Rivalierii und M. Audouinii. Diese zeigten schon bei niedrigsten Konzentrationen zu starke morphologische Schädigungen.

Auch die weiteren mikromorphologischen Veränderungen liessen sich mit Beobachtungen anderer Autoren (91, 131) weitgehend in Übereinstimmung bringen. Sie beobachteten ebenfalls die starke Verkrüppelung der Hyphen, die ballonartigen Anschwellungen, die Hyphenverknäuelungen

und die Plasmaaustritte bei den Konzentrationen von 5 - 20 µg/ml. Auch die Bildung atypischer Zellgrössen (6, 18, 132, 138) und den Verlust normaler Cytoplasmastrukturen konnten wir mit Hilfe des Lichtmikroskopes feststellen.

Mit länger dauernder Griseofulvineinwirkung nahm die Schädigung einiger Dermatophyten am fünften Tage nach der Beimpfung stark zu, während ein grosser Teil auf dem Schädigungsstand des dritten Beobachtungstages stehengeblieben war. Bei letzteren handelte es sich einerseits um sehr empfindliche Dermatophyten, die bereits maximal geschädigt waren, und andererseits um weniger griseofulvinempfindliche, wie T. mentagrophytes var. lacticolor, M. gypseum und K. Ajelloi.

Zum Schluss dieser mikroskopischen Betrachtungen noch eine kurze Bemerkung zu den morphologischen Veränderungen, die durch das Lösungsmittel Dimethylformamid hervorgerufen wurden. Sowohl RIETH [131] als auch BERNDT [15] berichten von der wachstumshemmenden und keimschädigenden Wirkung des Dimethylformamids in Konzentrationen höher als 1 %. Wir selbst haben, durch Vorversuche darin bestärkt, nur halbprozentiges Dimethylformamid verwendet. Trotzdem kam es bei einem grösseren Teil der besonders empfindlichen Dermatophyten zu stärkeren morphologischen Veränderungen, wie Wachstumshemmung, "curling effect" und bei M. Langeronii zu Plasmaaustritten. Die Möglichkeit lag nahe, die bei den niedrigen Griseofulvinkonzentrationen vorkommenden Veränderungen für Effekte des Dimethylformamids zu halten. Durch Prüfungen mit in aqua destillata gelöstem Griseofulvin kam es aber bei allen Griseofulvinkonzentrationen zu gleichen mikromorphologischen Veränderungen, so dass man annehmen muss, dass auch die durch in Dimethylformamid gelösten Griseofulvinmengen entstandenen Veränderungen griseofulvinspezifisch sind.

Mit der Methode der makroskopischen Beobachtung des Dermatophytenwachstums auf Nährböden mit verschiedenen Griseofulvinkonzentrationen wurde die minimale Hemmkonzentration festgestellt. Diese Grösse gibt an, bei welcher Griseofulvinkonzentration das Wachstum der Dermatophyten gerade noch vollständig gehemmt wird. Die minimale Hemmkonzentration lag nach einwöchiger Beobachtungszeit niedriger als nach zwei- und dreiwöchiger Beobachtungszeit, das heisst, der hemmende Einfluss des Griseofulvins auf die Dermatophyten verminderte sich in der zweiten und dritten Woche. An Hand der Tabellen VIII und IX ist zu ersehen, wie sich die minimale Hemmkonzentration in Abhängigkeit von der Beobachtungszeit ändert. Bei einem Teil der Dermatophyten (s. Tab. VII) ist die minimale Hemmkonzentration jedoch gleichbleibend und steht in keiner Beziehung zur Wirkungsdauer des Griseofulvins.

Die verschiedenen Dermatophytenarten überwinden die Griseofulvinhemmung also nicht gleichmäßig. Bei einigen ist die minimale Hemmkonzentration nach drei Wochen genauso niedrig wie nach einer Woche, bei anderen steigt sie um mehrere Verdünnungsstufen. Diese Beobachtung lässt vermuten, dass die Abnahme der Hemmwirkung nicht auf einen spontanen Zerfall des Griseofulvins zurückgeht, von dem alle Pilze in gleicher Weise betroffen wären. Der Verlust der Hemmwirkung kann einmal seine Ursache darin haben, dass das Griseofulvin von den Dermatophyten zerstört wird (7, 22), oder aber das Griseofulvin bleibt unverändert, und die Dermatophyten entwickeln eine Resistenz oder Gewöhnung. Auch das Vorhandensein einer Griseofulvinase wird erörtert (131).

Bei der Testung der 7o T. rubrum- und 2o T. mentagrophytes-Stämme, der bei unserem Patientengut am häufigsten vorkommenden Dermatophyten, konnten wir weder bei denjenigen Patienten, die niemals Griseofulvin einge-

nommen hatten, noch bei denen, die mit Griseofulvin behandelt worden waren, eine auffallende Griseofulvinunempfindlichkeit feststellen. Abgesehen von einem Fall, waren alle während der Behandlung angelegten Kulturen steril geblieben, während die Nativpräparate zum grössten Teil positiv waren. Nur in einzelnen Fällen liess sich ein eindeutig durch das Griseofulvin bewirkter "curling effect" an den Dermatophyten im Nativpräparat nachweisen. Auch die von einer länger als einem Jahr unter der Griseofulvintherapie stehenden Patientin gezüchteten Dermatophyten zeigten keine Zeichen einer gesteigerten Griseofulvinunempfindlichkeit, obwohl die Erkrankung in vivo griseofulvinresistent erschien.

Die Untersuchungen an den 7o T. rubrum- und 2o T. mentagrophytes-Stämmen liessen erkennen, dass auch innerhalb einer Art individuelle Unterschiede der Griseofulvinempfindlichkeit vorliegen. Diese individuellen, nicht von der Art abhängigen Unterschiede werden um so deutlicher, je länger die Kulturen beobachtet werden. Hieraus lässt sich wiederum der Schluss ziehen, dass nicht das Griseofulvin im Nährboden zerfällt, sondern dass die Pilze in der Lage sind, die Griseofulvinwirkung zu überwinden.

Um bei der weiteren Untersuchung der Entwicklung einer Griseofulvinresistenz die Möglichkeit auszuschalten, dass in den älteren Kulturen nicht mehr die gleiche Griseofulvinkonzentration wie am Anfang vorlag, wurden die Dermatophyten in fortlaufenden Passagen immer wieder auf frisch hergestellte Nährböden überimpft. Um das Ausmaß der sich entwickelnden Resistenz zu erfassen, war die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration ungeeignet; denn bei dieser besteht kein Pilzwachstum mehr. Daher lassen sich die Pilze von einer Kultur, in der die minimale Hemmkonzentration vorliegt, nicht weiter verimpfen. Ein besseres Maß ergibt sich aus der Messung

des Radius der Kolonien bei bestimmten Griseofulvinkonzentrationen.

Die Zunahme der Griseofulvinresistenz wird an der Zunahme des Radius der Kolonie gegenüber dem Radius der primär dem Griseofulvin ausgesetzten Kolonie festgestellt. Durch fortlaufende Passagen auf griseofulvinhaltigem Nährboden lässt sich bei vielen Dermatophyten eine partielle Resistenz erzeugen. Die einzelnen Arten verhalten sich hierbei unterschiedlich.

Es ist bekannt, dass Griseofulvin nur am Orte des Kontaktes mit dem Mycel eine schädigende Wirkung hat, das heisst am vegetativen, im Nährboden wachsenden Mycel. Das Luftmycel bleibt weitgehend unbeeinflusst. Hieraus ergibt sich die Frage, ob die erworbene Resistenz ebenfalls nur im vegetativen Mycel nachzuweisen ist, oder ob auch das ungeschädigte Luftmycel an diesem Sensibilitätsverlust teilhat, obwohl es nicht mit Griseofulvin in Kontakt kommt.

Zur Prüfung dieser Frage wurden in zwei Versuchsreihen einmal nur vegetatives Mycel und andererseits nur Luftmycel für die Überimpfung von Passage zu Passage verwendet. Die nach der Überimpfung von Luftmycel entstehenden Kolonien zeigten die gleiche Resistenzzunahme auf griseofulvinhaltigen Nährböden wie die Kolonien, die aus vegetativem Mycel ausgewachsen waren. Die Resistenzzunahme beschränkt sich also nicht auf die Mycelanteile, die direkten Kontakt mit dem Griseofulvin haben.

Von grosser praktischer Bedeutung ist die Frage,ob die erworbene Resistenz verloren geht, wenn die Dermatophyten wieder auf griseofulvinfreiem Nährboden wachsen. Zur Untersuchung dieser Frage wurden die Dermatophyten auf griseofulvinfreien Nährboden überimpft, nachdem sie durch fortlaufende Passagen auf griseofulvinhaltigen

Nährböden eine partielle Resistenz entwickelt hatten. Nach dreiwöchigem Wachstum auf griseofulvinfreiem Medium wurde erneut eine Resistenzbestimmung durchgeführt. Hierbei zeigte sich, dass ein Teil der Dermatophyten noch nicht die ursprüngliche Griseofulvinempfindlichkeit zurückgewonnen hatte. Eine Minderung der erworbenen Resistenz war jedoch festzustellen.

Vielen Autoren (3, 62, 7o, 133, 135, 136, 138) gelang die Züchtung resistenter Dermatophytenstämme, Doch fast alle diese Stämme verloren ihre vermehrte Resistenz, wenn sie für eine Generation auf einem griseofulvinfreien Agar gezüchtet wurden. Sie zeigten danach die gleiche Empfindlichkeit wie die Ausgangskultur.

Die Beantwortung der Frage, ob bisher bereits resistente Stämme von griseofulvinbehandelten Patienten isoliert werden konnten, scheiterte bei den Versuchen in den meisten Fällen daran, dass unter der Griseofulvinbehandlung zwar oft noch mikroskopisch Pilze nachzuweisen waren, diese jedoch in der Kultur kein Wachstum mehr zeigten. In einem Fall konnte ein Trichophyton-rubrum-Stamm von einer griseofulvinbehandelten Patientin isoliert werden. Es zeigt sich, dass die Kulturen dieses Stammes im Verlaufe der Behandlung keine Abnahme ihrer Griseofulvinempfindlichkeit erfahren hatten.

Um die Frage der Entstehung von griseofulvinresistenten Stämmen bei griseofulvinbehandelten Patienten näher zu klären, wäre es erforderlich, eine grössere Anzahl von Dermatophyten, die unter der Behandlung isoliert wurden, zu prüfen. Aus den experimentell gewonnenen Ergebnissen lassen sich jedoch bereits einige wichtige Beobachtungen zu dieser Frage ableiten:

Die Untersuchungen haben ergeben, dass eine temporäre Entwicklung einer zumindest partiellen Griseoful-

vinresistenz möglich ist.

Die erworbene Resistenz beschränkt sich nicht nur auf das geschädigte Mycel sondern geht auch in ungeschädigte Anteile des Mycels über. Die Resistenz ist damit nicht an den unmittelbaren Kontakt mit Griseofulvin gebunden. Die Griseofulvinresistenz lässt sich bei einem Teil der Pilze auch nach einer Passage auf griseofulvinfreiem Nährboden nachweisen. Sie nimmt jedoch beim Wachstum auf griseofulvinfreiem Nährboden ab und bildet sich nach allen bisherigen Untersuchungen schliesslich vollständig zurück.

Für die Prüfung einer erworbenen Griseofulvinresistenz bei griseofulvinbehandelten Patienten bedeutet dieses, daß eine eventuell vorhandene Resistenz, die unter der Behandlung eintrat und die zu einer partiellen Aufhebung des Griseofulvineffektes bei dem Patienten führt, bereits bei der Züchtung des Pilzes in der Primärkultur verlorengeht und daher in späteren Testen nicht mehr nachzuweisen ist.

Bei der Prüfung der Frage, ob bei einem Patienten eine Griseofulvinresistenz des Erregers eingetreten ist, sollten daher bereits aus dem Untersuchungsmaterial Kulturen auf griseofulvinhaltigen Nährböden verschiedener Konzentrationen angelegt werden. Zur Beurteilung des Griseofulvineffektes empfiehlt sich hierbei die mikroskopische Untersuchung und Feststellung mikromorphologischer Kriterien der Schädigung. Art und Ausmaß der mikroskopischen Kriterien lassen dabei auch Rückschlüsse auf die Intensität des schädigenden Griseofulvineinflusses zu.

Da die Untersuchungen ergeben haben, dass die Entwicklung einer Griseofulvinresistenz generell möglich ist, sollte diese Möglichkeit stets in Erwägung gezogen werden, wenn bei einem Patienten eine Therapieresistenz gegen Griseofulvin eintritt. In den meisten Fällen hat sich bisher jedoch gezeigt, dass die Therapieresistenz

andere Ursachen hat, die nicht mit einer Resistenzentwicklung des Erregers in Zusammenhang stehen. Es ist denkbar, dass eine verbesserte Untersuchungstechnik, die den schnellen Verlust der Resistenz auf griseofulvinfreiem Nährboden berücksichtigt, zu anderen Ergebnissen führt.

Zusammenfassung

Dermatophyten stellen eine Gruppe von Pilzen dar, die gegen Griseofulvin weitaus empfindlicher sind, als die meisten anderen Pilze. Diese Empfindlichkeit variiert je nach der Art der Pilze. An Hand von experimentellen Untersuchungen wurde die Griseofulvinempfindlichkeit und -Resistenz von verschiedenen Dermatophyten untersucht. Dabei konnten wir folgende Feststellungen machen:

1. Die mikroskopisch sichtbaren Schädigungen durch Griseofulvin sind:

   A. Hemmung der Auskeimung

   B. Hemmung des Längenwachstums

   C. Änderung der Wachstumsrichtung im Sinne des "curling effects"

   D. Vermehrte Ausbildung von Verzweigungen

   E. Destruktion des Mycels in Form von Auftreibungen, Plasmaaustritten und völliger Verklumpung der Hyphen.

2. Bei der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration für verschiedene Dermatophytenarten stellte sich heraus, dass diese mit zunehmender Beobachtungszeit in vielen Fällen grösser wird. Diese Tatsache ist auf Grund unserer Untersuchungen mit grosser Wahrscheinlichkeit auf eine Resistenzbildung zurückzuführen. Als Maß für die Resistenzbildung wird die Veränderung des Radius der Pilzkolonien nach gleichbleibenden Expositionszeiten gemessen.

3. Die erworbene Resistenz beschränkt sich nicht nur auf das geschädigte Mycel, sondern geht auch in un-

geschädigte Anteile des Mycels über. Die Resistenz ist damit nicht an den unmittelbaren Kontakt mit Griseofulvin gebunden.

4. Durch eine mehrwöchige Passage von resistenten Dermatophyten über griseofulvinfreien Nährboden, kommt es zu einer wesentlichen Verminderung der erworbenen Resistenz.

5. In einem Fall konnte gezeigt werden, dass es selbst durch eine länger dauernde Griseofulvinbehandlung nicht zu einer Minderung der Griseofulvinempfindlichkeit der Dermatophyten kam. Um darüber eine endgültige Aussage machen zu können, wären jedoch Untersuchungen an weiteren Fällen erforderlich.

6. Eine Griseofulvinresistenzbildung in vitro ist auf Grund der Untersuchungen möglich. Es muss daher bei einer Griseofulvinbehandlung mit nachlassendem Therapieerfolg an diese gedacht werden, obwohl es sich bisher gezeigt hat, dass ein Misserfolg in der Behandlung andere Ursachen hat.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Abbot M.T.J. and Grove J.F.:
Uptake and translocation of Griseofulvin. Exp.cell. res. 17 105-103 (1959)
2. Adam.W.:
Externe und interne Therapie von Dermatomykosen und ihre Indikation.
Medizinische (1959) 1980-1982
3. Adam.W.:
Was gibt es Neues in der Therapie der Dermatomykosen mit Griseofulvin?
Dtsch.med.Wschr.86 866-870 (1961)
4. Albrecht M.:
Einwirkung von Griseofulvin auf Kulturen von embryonalen Fibroblasten und menschlichem Knochenmark
Arzneimittel Forsch. 12 282-285 (1962)
5. Ashton.G.C. and A.Rhodes:
Griseofulvin and dimethylformamide
Chemistry and industry 1955 1183-1184
6. Aytoun R.S.C.:
The effects of griseofulvin on certain phytopathogenic fungi
Ann.Botanny N.S.Vol. 20, 297-305 (1956)
7. Aytoun R.S.C., E. Napier, A.H. Campell, D.A.L.Seiler:
Myocological aspects of action of griseofulvin against dermatophytes
Arch.Derm.Syph. (Chicago) 81, 650-656 (1960)
8. Barich L.L., Schwarz J., Barich D.J., and Horowitz M.G.:
Induction and reversibility of griseofulvin induced hepatomegaly and hepatitis in mice
Clin.Med. 71, 91-98 (1964)
9. Barich L.L., Nakai T., Schwarz J., Barich J.:
Tumour-promoting effect of excessively large dosis of oral griseofulvin on tumours induced in mice by methylcholantene
Nature (Lond.) 187, 4734, 335-336 (1960)

1o. A.J.E. Barlow:
Griseofulvin bei der Behandlung chronischer Infektionen durch Trichophyton rubrum
Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen
Springerverlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962 64-67

11. M.J.Barnesand, Boothroyd B.:
The metabolism of griseofulvin in mammals
Bioch.J. 78, 41-43 (1961)

12. Bedford C., D.Busfield, K.J. Child, J.Mac.Gregor, P.Sutherland and E.G.Tomich:
Studies on the biological deposition of griseofulvin, an oral antifugal agent.
Arch.Derm.Syph. (Chicago) 81, 735-745 (196o)

13. Bedford C., Child K.J., Tomich C.G.:
Spectrophytofluorometric assay of griseofulvin
Nature (Lond.) 184, 364-365 (1959)

14. Berman A, Franklin R.L.:
Precipitation on acute intermittent porphyria by griseofulvin therapy
J.A.M.A. 192, 1oo5-1oo7 (1965)

15. Berndt R.S.:
Vergleichende experimentelle Untersuchungen zur antimycetischen Wirkung von Griseofulvin in vitro
Dissertationsarbeit der U.-Hautklinik Hamburg Eppendorf 1965

16. Biggio P., Gessa G.L., Pinetti P.:
Azione protettiva della griseofulvina sulla necrosi-ischemica da ergotamia della coda del ratto
Boll.Soc.ital.biol.sper. 4o, 785-786 (1964)

17. Blaich: Erwähnt bei H. Walther
Zur Griseofulvintherapie der Dermatomykosen
Die Griseofulvintherapie der Dermatomykosen
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962 82-84

18. Blank H., Taplin D., Roth F.J. jr.:
Electron microscopic abservations on the effects of griseofulvin on dermatophytes
A.M.A.Arch.Derm.Syph.(Chicago) 81, 667-68o (196o)

19. Blank H.:
Antifungal and other effects of griseofulvin
Amer.J.Med. 39, 831-838 (1965)
2o. Blank H., Roth F.J.:
The treatment of dermatomycoses with orally administered Griseofulvin
Arch.Derm.Syph. 79, 259-266 (1959)
21. Blaschke-Hellmessen R.:
Ungewöhnliche morphologische Veränderungen bei pathogenen Hautpilzen durch antimykotisch wirkende aerobe Sporenbildner
Zbl.Bakt.1.Orig. 175, 282-3o5 (1959)
22. Boothroyd B., Napier E.J., Somerfield G.A.:
The demethylation of griseofulvin by fungi
Biochem.J. 8o, 34-37 (1961)
23. Böhme H., Ziegler H.:
Untersuchungen über die Wirkung von Griseofulvin auf Mikrosporum canis
Mykosen 3, 57-69 (196o)
24. Brian P.W.:
Presidential adress.Griseofulvin
Brit.Mycol.Soc.Trans.43, 1-13 (196o)
25. Brian P.W.:
Controll of fungal diseases of plants with griseofulvin
Trans.St.John's Hosp. derm. Soc. 45, 4-6 (196o)
26. Brian, P.W.:
Studies on the biological activity of griseofulvin
Ann.Botanny N.S.Vol. 13, 59-77 (1949)
27. Brian P.W., Curtis P.J., Hemming H.G.:
A substance causing abnormal development of fungal hyphae produces by penicillium janczewskii Zal.
1.Biological assay production and isolation of "curling factor"
Trans.Brit.Mycol.Soc.29, 173-187 (1946)
28. Brian P.W., Curtis P.J., Hemming H.G.:
A substance causing abnormal development of fungal hyphae produced by penicillium janczewskii Zal.
3.Identity of "curling factor" with griseofulvin
Trans.Brit.MycolSoc. 32, 3o-33 (1949)

29. Brian P.W., Curtis P.J., Hemming H.G.:
Production of griseofulvin by penicillium raistrickii
Brit.Mycol. Soc.Trans. 38, 3o5-3o8 (1955)
3o. Brian P.W., Wright J.M., Way A.M.:
Uptake of antibiotic metabolites of soil microorganisms by plants
Nature (Lond.) 167, 347-349 (1951)
31. Brossi A., Baumann M., Gerecke M., Kyburz E.:
Syntheseversuche in der Griseofulvinreihe
Vorl.Mitt: Totalsynthese von Griseofulvin
Helv.Chim. Acta.43, 1444-1447 (196o
1.Mitt: Totalsynthese von Griseofulvin
Helv.Chim. Acta.43, 2o71-2o82 (196o)
32. Burns J.:
Implications of enzyme induction for drug therapy
Am. J. Med. 37, 327-331 (1964)
33. Busfield B., Child K.J., Atkinson R.M., Tomich E.G.:
An effect of phenobarbitone on blood levels of griseofulvin in man
Lancet 2, 1o42-1o43 (1963)
34. Busfield D., Child K.J., Tomich E.G.:
An effect of phenobarbitone on griseofulvin metabolism in the rat
Brit.J. Pharmacol. 22, 137-142 (1964)
35. Busfield D., Child K.J., Basil B., Tomich E.G.:
The influence of sex on the catabolism of griseofulvin
J.Pharm. (Lond.) 12, 539-543 (196o)
36. Cochrane Th., Tullet A.:
Griseofulvin treatment of acute cattle ringworm infections in man
Brit. Med. J. 5147, 286-287 (1959)
37. Cohen A., Goldman J., Daniels R., Kanenson W.:
Treatment of shoulder-hand syndrome with griseofulvin
J.A.M.A. 173, 542-543 (196o)
38. Copper D.:
Erwähnt bei Brian P.W. Presidential adress.Griseofulvin
Brit. Mycol. Soc. Trans. 43, 1-13 (196o)

39. Cowan M.A.:
Intermittent treatment of trichophyton rubrum-infections with griseofulvin
Brit. J. Derm. 72, 185-187 (196o)

4o. Crounse R.G.:
Human pharmacology of griseofulvin:
The effect of fat intake on gastrointestinal absorption
J. Invest. Derm. 37, 529-533 (1961)

41. Crounse R.G.:
Effective use of griseofulvin
Arch. Derm. Syph. (Chicago) 87, 176-178 (1963)

42. D'Arcy P.F., Howard E.M., Muggleton P.W., Townsend S.B.:
The anti-inflammatory action of griseofulvin in expermental animals
J. Pharm. Pharmacol. 12., 659-665 (196o)

43. Degos R.:
Griseofulvintreatment at Saint Louis Hospital Paris
Arch. Derm. Syph. (Chicago) 81, 8o6-8o6 (196o)

44. De Matteis F., Rimington C.:
Disturbance of porphyrin metabolism caused by griseofulvin in mice
Brit. J. Derm. 75, 91-1o4 (1963)

45. De Pasquale N.P., Burks J.W., Burch G.E.:
The treatment of angina pectoris with griseofulvin. Preliminary Communication
J.A.M.A. 184, 421-422 (1963)

46. El-Nakeeb M.A., Mc Lellan W.L.jr., Lampen J.O.:
Antibiotic action of griseofulvin on dermatophytes
J. Bact. 89, 557-563 (1965)

47. El-Nakeeb M.A., Lampen J.O.:
Uptake of griseofulvin by the sensitive dermatophyte Microsporum gypseum
J. Bact. 89, 564-569 (1965)

48. El-Nakeeb M.A., Lampen J.O.:
Distribution of griseofulvin, taken up by Microsporum gypseum: Complexes of the antibiotic with cell constituents
J. Bact. 89, 1o75-1o81 (1965)

49. Epstein W.L., Larson M.A.:
Griseofulvinpotentiation of cholchicine toxicity
J. invest. Derm. (Baltimore) 36, 5-6 (1961)

5o. Esteves J., Neves H.:
Griseofulvin, therapeutic results in different dermatomycoses after 22 weeks of treatment. Effect on experimental dermatomycosis in man.
Dermatologica (Basel) 9, 148-158 (1959)

51. Ettig B.:
Griseofulvin und Trichomycin, zwei perorale Antimykotika zur Therapie mykotischer Infektionen
Forsch. Fortschr. dtsch. Wiss. 37, 262-265 (1963)

52. Fegeler, F.:
Zum heutigen Erscheinungsbild der Dermatomykosen und ihren Erregern
Arch. klin. u. exp. Derm. 213, 688-695 (1961)

53. Fegeler F., Forck G.:
Nebenwirkungen der Griseofulvintherapie
Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962 92-99

54. Fischer E.:
Die experimentell-pharmakologischen Grundlagen der Griseofulvinbehandlung
Dermatologica (Basel) 123, 153-158 (1961)

55. Fisher B.K., Smith J.G. jr., Crounse R.G., Roth F.J. jr., Blank H.:
Verrucous epidermophytosis , its response and resistance to griseofulvin
Arch. Derm. Syph. (Chicago) 84, 375-38o (1961)

56. Forck G., Fegeler F.:
Spasmen der peripheren arteriellen Gefäße bei Nagelpilzerkrankungen und ihre Lösung durch Griseofulvin. Zur Methodik der Darstellung des peripheren Volumenpulses
Münch. med. Wschr. 1o4, 2342-2345 (1962)

57. Frank L, Steiner, K., Kaufmann J., Chiaramonte J.:
A clinical evaluation and toxicity study to griseofulvin
N.Y.St.J.Med. 6o, 123o-1233 (196o)

58. Frey J.R., Brossi A., Geleick H., Scholer H.J.:
Stereospezifität der Griseofulvinwirkung
Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg
1962 10-13

59. Frey J.R., Geleick H.:
Zur Wirkung von Griseofulvin auf die experimentelle Trichophytie des Meerschweinchens
Dermatologica (Basel) 119, 132-148 (1959)

60. Frydrychowicz, H.:
Griseofulvin bei Nagelmykosen
Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg
1962, 72-74

61. Garbsch E., Lindmayr W., Lofferer O.:
Behandlung der Nagelmykosen sechs Jahre nach Einführung des Griseofulvins
Wien.klin. Wschr. 76, 434-437 (1964)

62. Gentles J.C.:
Pharmacological and biological aspects of griseofulvin
Arch. klin. exp. Derm. 213, 685-688 (1960)

63. Gentles J.C.: Erwähnt bei Hildick-Smith, G., H. Blank, I. Sarkany
Relapse, resistance, and failure of treatment with griseofulvin
Fungus Diseases and their Treatment, Little, Brown and Co.
1964, 465-469

64. Gentles J.C.:
Experimental ringworm in guinea pigs: Oral treatment with griseofulvin
Nature (London) 182, 476-477 (1958)

65. Gentles J.C., Barnes M.J., Fantes K.H.:
Prescence of griseofulvin in hair of guinea pigs after oral administration
Nature 183, 256-257 (1959)

66. Goldmann L., Beyer A., Schwarz J.:
Absence of local cytotoxic change in man from griseofulvin
Nature (London) 187, 4734, 335-335 (196o)

67. Götz H.:
Griseofulvin, ein orales, die bisherige Dermatomykose-therapie revolutionierendes Antibiotikum.
Med. Klinik 54, 2162-2166 (1959)

68. Götz H.:
Therapie der Dermatomykosen. Nebenwirkungen der Griseofulvintherapie
Jadassohn, Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten
Ergänzungswerk 4/3, bearbeitet von H. Götz,
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962
Zur Frage der Entwicklung resistenter Pilzstämme 391-392

69. Götz, H.:
Therapie der Dermatomykosen. Zur Frage der Entwicklung resistenter Pilzstämme
Jadassohn, Handbruch der Haut- und Geschlechtskrankheiten
Ergänzungswerk 4/3, bearbeitet von H. Götz,
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962,392-393

7o. Götz H.:
Experimentelle und klinische Beobachtungen bei der Behandlung der tinea manum, peduum, corporis und unguium mit Griseofulvin
Hautarzt 1o, 539-547 (1959)

71. Granick S.:
Induction of the synthesis of delta-aminolevulenic acid synthetase in liver parenchyme cells that induce acute porphyria
J. Biol. Chem. 238, 2247-2249 (1963)

72. Greco G.A., Moss E.L. jr., Floey E.J.:
Observations on treatment of fungus infections of animals with griseofulvin
Antibiot. Ann. 1959-196o, 663-669

73. Grimmer H.:
Histologische Untersuchungen bei Nagelmykosen (Nachweis vegetativer Pilzelemente und deren Bedeutung für die Griseofulvintherapie)
Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen
Springer-Verlag 1962, Berlin-Göttingen-Heidelberg 78-78

74. Grimmer H.:
Histopathologie der Onychomykose und ihre Bedeutung für die Griseofulvintherapie
Z.Haut.u.Geschl.-Kr. 28, 365-374 (196o)

75. Grimmer H.:
Griseofulvin
Mykosen 3, 124-136 (196o)

76. Grove J.F., Millan J., Mulholland T.P.C., Rogers M.A.T.:
Griseofulvin Part. 1-6
J.Chem.Soc. 1952, 3949-4oo2

77. Grove J.F., Ismay D., Mc Millan J., Mulholland T.P.C., Rogers M.A.T.:
Communication to the editor. The structure of griseofulvin
Chem.and Ind. 1951, 219-22o.

78. Grove J.F., Mc Gowan J.C.:
Identity of griseofulvin and "curling factor"
Nature (London) 16o, 4o69, 574-574 (1947)

79. Hargreaves G.K.:
The treatment of onycnomycosis with griseofulvin
Brit.J.Derm. 72, 358-364 (196o)

8o. Heite H.J.:
Zur Pharmakologie des Griseofulvins
Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962, 1-9

81. Heite H.J., Janke D.:
Griseofulvin
Dtsch.med.Wschr. 84, 22o2-22o6 (1959)

82. Heymer F.:
Untersuchungen über den Einfluss des Griseofulvin auf die Mitose bei Vicia faba L.
Dtsch.med.Wschr. 85, 438-439 (196o)

83. Hildick-Smith G., Blank H., Sarkany J.:
Griseofulvin
Fungus Diseases and their Treatment. Little, Brown and Company, Boston 1964,465-471

84. Hildick-Smith G., Blank H., Sarkany J.:
Griseofulvin
Fungus Diseases und their Treatment. Little, Brown and Company, Boston 1964, 427-449.

85. Huber H.P.:
Zur Frage der Rezidive bei Mykosen nach Griseofulvinbehandlung
Dermatologica (Basel) 123, 164-172 (1961)

86. Ito K.:
Dermatophytes sesitivity to griseofulvin
Bull.pharm.Res.Inst. (Osaka), 48. 1-2o, (1964)

87. Ito K., Takeuchi M., Tomomatsu S.:
Dermatophytes relatively resistant to griseofulvin
Bull.Pharm.Res.Inst. (Osaka), 29, 1o-15 (196o)

88. Jefferys E.G., Brian P.W., Hemming H.G., Lowe D.:
Antibiotic production by the microfungi of acid heath soils
J.gen.Microbiol. (London) 9, 314-325 (1953)

89. Jolly H.W., Hailey C.W., Netick J.:
Ph-determinations of the skin: Readings under normal and abnormal conditions
J.invest.Derm. 36, 3o5-3o8 (1961)

9o. Jung H.D., Gerhard H.:
Verhalten und Hemmung reduzierender Fermentsysteme unter Griseofulvineinwirkung bei verschiedenen Dermatophyten, fakultativ pathogenen Myceten, Hefen und Saprophyten
Derm.Wschr. 148, 31o-318 (1963)

91. Jung D.H., Gerhard H.:
Die Einwirkung von Griseofulvin auf die Funktion reduzierender Fermente bei Dermatophyten und Saprophyten
Derm.Wschr. 148, 257-264 (1963

92. Kaplan W., Ajello L.:
Oral treatment of spontaneus ringworm in cats with griseofulvin
J.Am.Vet.M.A. 135, 253-26o (1959)

93. Klüken N.:
Dermatomykosen auf dem Boden von peripheren Durchblutungsstörungen
Derm.Wschr. 141, 224-224 (196o)

94. Knoth W., Knoth-Born R.C., Ranft H.:
Über die unterschiedliche Wirkung von Griseofulvin in vitro auf verschiedene Pilzarten
Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg
1962, 14-17

95. Koch H.:
Erfahrungen mit Griseofulvin in der Poliklinik
Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg
1962, 87-92

96. Kopp H., Kvorning S.A., Marcussen P.V.:
The treatment of favus with griseofulvin
Brit.J.Derm. 72, 173-178 (196o)

97. Kruspl W.:
Ergebnisse der Griseofulvinbehandlung von Onychomykosen
Z.Haut-u.Geschl.-Kr. 38, 99-1o7 (1965)

98. Kyburz E., Geleick H., Frey J.R., Brossi A.:
Syntheseversuche in der Griseofulvinreihe 2.Mitt.
Abwandlung im Ring C von Griseofulvin
Helv.chim.Acta 43, 2o83-2o87 (196o)

99. Lamb. J.H., Jones P.E., Morgan R.J., Everett M.A. and Peurod J.N. jr:
Further studies in light sensitive eruptions
Arch.Derm.Syph. 83, 568-583 (1961)

100. Latapi F.:
Erwähnt bei Heite H.J. und Janke D.
Dtsch.med.Wschr. 84, 2202-2206 (1959)

101. Latapi F.:
Griseofulvina,un nuevo antimicotico por via oral
Sem.med.Mex. 64, 113-115 (1959)

102. Lauder J.M., O'sullivan J.G.:
Ringworm in cattle, prevention and treatment with griseofulvin
Vet.Rec. 70, 949-951 (1958)

103. Livingood C.S., Brannen M., Orders R.L., Kopstein J.B., Rebuck J.W.:
The effect of prolonged administration of griseofulvin on the liver, hematopoetic system and kidney
Arch.Derm.Syph. (Chicago) 81, 760-765 (1960)

104. Lead article. Griseofulvin and porphyrin metabolism
Lancet 1, 1963, 870-870

105. Martin A.R.:
The systemic and local treatment of experimental dermatophytosis with griseofulvin
J.invest. Derm. 32, 525-528 (1959)

106. Mc Cuistion C.H., Lawlis M., Gonzales B.B.:
Human pharmacological studies with griseofulvin
Arch.Derm.Syph. (Chicago) 81, 766-768 (1960)

107. Mc Gowan J.C.:
A substance causing abnormal development of fungal hyphae produced by penicillium janczewskii Zal. 2. Preliminary notes on the chemical and physical properties of "curling factor"
Brit.Mycol.Soc.Trans. 29, 188-193 (1946)

108. Mc Leod J., Nelson W.O.:
Griseofulvin and human spermatogenesis
Proc.Soc.exp. Biol. (N.Y.) 102, 259-260 (1959)

109. Mc Leod J., Nelson O.W.:
Griseofulvin and human spermatogenesis
Arch.Derm.Syph. (Chicago) 81, 758-759 (1960)

110. Mc Nall E.G.:
Biochemical studies on the metabolism of griseofulvin
Arch.Derm.Syph. (Chicago) 81, 657-661 (1960)

111. Mc Nall E.G.:
Metabolic studies on griseofulvin and its mechanism of action
Antibiot.Ann. 1959-1960, 674-679

112. Meara R.H.:
Tinea capitis treated with griseofulvin
Brit.J.Derm. 72, 169-172 (1960)

113. Meinhof W.:
Ergebnisse der langfristigen Behandlung von Nagelmykosen mit Griseofulvin
Z.Haut-u.Geschl.-Kr. 38, 399-408 (1965)

114. Meinhof W., Lie Mie Bong:
Experimentelle Untersuchungen über Sensibilitätsunterschiede zwischen älteren Sammlungskulturen und frisch isolierten Candida-albicans-Stämmen
Arch.klin.u.exp.Dermat. 220, 334-343 (1964)

115. Michaelides P., Rosenthal S.A., M.B. Sulzberger, V.H. Witten:
Trichophyton tonsurans infection resistent to griseofulvin
Arch.Derm.Syph. (Chicago) 83, 988-990 (1961)

116. Möller K.O.:
Pharmakologie
Benno Schwabe und Co.-Verlag, Basel-Stuttgart, 282

117. Napier E.J., Turner D.J., Rhodes A.:
The in vito action of griseofulvin against pathogenic fungi of plants
Ann.Botanny N.S.Vol.20, 461-466 (1956)

118. Nasemann T., Bandmann, H.J.:
Allergische Exantheme als Komplikation bei Griseofulvintherapie
Hautarzt 14, 505-509 (1963)

119. Orrenius S., Ericsson J.L.E., Ernster L.:
Phenobarbital-induced synthesis of the microsomal drug-metabolising enzyme system and its relationship to the proliferation of endoplasmic membranes
J.Cell.Biol. 25, 672-629 (1965)

12o. Oxford A.E., Raistrick H., Simonart P.:
Studies on the biochemistry of micro-organisms
Griseofulvin $C_{17}H_{17}O_6CI$, a metabolic product of penicillium griseofulvum Diercks
Biochem.J. 33, 24o-248 (1939)

121. Paget G.E., Walpole A.L.:
Some cytological effects of griseofulvin
Nature (Lond.) 182, 132o-1321 (1958)

122. Paschaud J.M.:
Die Griseofulvinbehandlung der Nagelmykosen bei Bradyplasie der Nägel
Dermatologica (Basel) 123, 159-163 (1961)

123. Pettker K., Rieth H.:
Mikrosporiebehandlung mit Griseofulvin bei einer Heimepidemie durch Mikrosporum Audouinii
Z.Haut-u.Geschl.-Kr. 28, 177-184 (196o)

124. Polemann G.:
Zur Diagnostik und Therapie der Onychomykosen
Med.Klinik 57, 543-549 (1962)

125. Randazzo S.D., Giardina A.:
Therapeutische Möglichkeiten des Griseofulvins auf antitumoralem und antiviralem Felde
Derm.Wschr. 15o, 3-6 (1964)

126. Redecker A.G., Sterling R.E., Bronow R.S.:
Effect of griseofulvin acute intermittent porphyria
J.A.M.A. 188, 46o-468 (1964)

127. Reichenberger M., Götz H.:
Zur Therapie der Tinea unguium mit Griseofulvin
Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen, Sprihger-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962, 68-71

128. Riehl, G., Hekele K., Lofferer O.:
Erfahrungen mit dem peroral wirksamen Antimykotikum Griseofulvin
Derm.Wschr. 141, 161-171 (1960)

129. Riehl G.:
Griseofulvin, ein peroral wirksames Antimykotikum
Hautarzt 10, 136-136 (1959)

130. Rieth H.:
Die Antimykotika
Jadassohn Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten
Ergänzungswerk 5/1. Herausgegeben von J. Kimmig
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962, 1236-1245

131. Rieth H.:
In vitro Beobachtungen zur Wirkungsweise des Griseofulvins
Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen,
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962, 18-24

131a. Rieth H.:
Griseofulvin bei der Mikrosporie und der Trichophytie
Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen,
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962, 40-52

132. Rieth H.:
Antimykotica unter besonderer Berücksichtigung des Griseofulvins
Hautarzt 12, 193-200 und 242-249 (1961)

133. Robinson H.M.jr., Robinson R.C.V., Bereston E.S., Manchey L.I., Bell F.K.:
Griseofulvin, clinical and experimental studies
Arch.Derm.Syph. (Chicago) 81, 66-76 (1960)

134. Robinson R.C.V., Ferciot T.N., Robinson H.M.jr.:
In vito resistance studies with griseofulvin
Arch.Derm.Syph. (Chicago) 81, 681-683 (1960)

135. Rosenthal S.A., Wise R.S.:
Studies concerning the development of resistance of griseofulvin by dermatophytes
Arch.Derm.Syph. (Chicago) 81, 684-689 (1960)

136. Rosenthal S.A.:
Diskussionsbemerkung at the twetieth annual the society for investigative dermatology. Inc.Atlantic City.N.J.June 7, 1959
J.invest.Derm. 33, 426 (1959)

137. Roth F.J.jr.:
Erwähnt bei Hildick-Smith G., H. Blank, J. Sarkany
Relapse, resistance and failure of treatment with griseofulvin
Fungus Diseases and their Treatment. Little, Brown and Co. Boston 1964,465-469

138. Roth F.J.jr., Sallman B., Blank H.:
In vitro studies of the antifungal antibiotic griseofulvin
J.invest.Derm. 33, 403-418 (1959)

139. Roth F.J.jr., Blank H.:
The bioassay of griseofulvin in human stratum corneum
Arch.Derm.Syph. (Chicago) 81, 662-666 (1960)

140. Rubin A.A.:
Coronary vascular effects of griseofulvin
J.A.M.A. 185, 971-972 (1963)

141. Sams W.M.:
Favus treatet with griseofulvin
Arch.Derm.Syph. (Chicago) 81, 802-805 (1960)

142. Schäfer U., Schöldgern W., Stüttgen G.:
Der Einfluss einer langfristigen Griseofulvintherapie auf Serummilchsäure dehydrogenase, Serumtransaminase und Bluteiweisse
Z.Haut-u.Geschl-Kr. 32, 76-81 (1962)

143. Schirren C.:
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Griseofulvinwirkung auf die Spermiogenese der Ratte
Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962
30-35

144. Schwarz J., Loutzenhiser J.K.:
Laboratory experiences with griseofulvin
Arch.Derm.Syph. (Chicago) 81, 694-699 (1960)

145. Slonim R.R., Howell D.S., Brown jr. H.E.:
Influence of griseofulvin upon acute gouty arthritis
Arthrit.Rheumat. 5, 397-399 (1962)

146. Stanka P., Nasemann Th.:
Mitosehemmung durch Griseofulvin in Hela-Zell-kulturen
Hautarzt 12, 468-469 (1961)

147. Steinberg T.H., Mc Nall E.G.:
Griseofulvin, seine biologische Chemie und Aktivität
Arch.klin.exp. Derm. 213, 674-680 (1960)

148. Tappeiner J.:
Griseofulvin, ein peroral wirksames Antimykotikum bei Trichophytia superficialis capillitii et corporis
Derm.Wschr. 140, 744-746 (1959)

149. Teller H., Schönknecht F.:
Beitrag zur Griseofulvintherapie der Mikrosporie
Z.Haut.u.Geschl.-Kr. 28, 160-165 (1960)

150. Thurner J.:
In vitro Studien über Griseofulvin

151. Tickner A.:
Action of griseofulvin on metabolism of Trichophyton rubrum in vitro
Tr.St.John's Hosp.Dermat.Soc. 45, 127-129 (1960)

152. Vanbreuseghem R., Rosenthal S.:
Griseofulvinaufnahme durch die Nägel
Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962
55-64

153. Van Wisselingh C.:
Mikroskopische Untersuchungen über die Zellwände der Fungi
Jb.wiss.Bot.31, 619-687 (1897)

154. Vertommen J.:
Contribution à l'etude de la sensibilité des dermatophytes à la griseofulvine
Arch.belges.Derm. 19, 105-117 (1963)

155. Vilanova X., Pujol J.:
Clinical trial with new formulation griseofulvin
Trans.St.John's Hosp. Derm. Soc. N.S. 48, 92-96 (1962)

156. Vincent J.M.:
Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors
Nature 159, 85o-85o (1947)

157. Walther H.:
Zur Griseofulvintherapie der Dermatomykosen
Die Griseofulvintherapie der Dermatomykosen
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg
1962, 82-84

158. Weston-Hurst E., Paget G.E.:
Protoporphyrin, cirrhosis and hepatomata in the livers of mice given griseofulvin
Brit.J.Derm.75, 1o5-112 (1963)

159. Williams D.J., Marten R.H., Sarkany I.:
Oral treatment of ringworm with Griseofulvin
Lancet 2.: 1212-1213 (1958)

16o. Phytotoxic effects of some antibiotics
Ann.Botanny 15, 493-5o1 (1951)

161. Ziegler H.:
Untersuchungen über die Wirkung von Griseofulvin auf Mikrosporum canis
Z.allg.Mikrobiol. 3, 211-224 (1964)

162. Ziegler H., Böhme H.:
Untersuchungen über den Stoffwechsel der Dermatomyceten
Mykosen 5, 1-17 (1962)

Herrn Professor Dr. med. O. Braun-Falco
danke ich für die Arbeitsmöglichkeit an der
Dermatologischen Universitätsklinik zu Marburg
und für die Überlassung des Themas.

Herrn Priv. Doz. Dr. W. Meinhof danke ich für
die praktische Unterstützung bei meiner Arbeit.

Lebenslauf

Als Tochter des Oberstudienrates Dr. Wolfgang Buch und dessen Ehefrau Anna-Elisabeth geb. Schwab wurde ich am 30.9.1938 in Frankfurt/M. geboren.

Meine Kindheit verbrachte ich in Frankfurt, Bad Hersfeld und Fritzlar, wo ich Ostern 1944 eingeschult wurde. Im Herbst 1949 bestand ich die Aufnahmeprüfung in die Sexta des Fritzlarer Ursulinengymnasiums, das ich bis zur Obersekunda besuchte. Anschliessend wechselte ich in ein neusprachliches Gymnasium - ebenfalls in Fritzlar - über, wo ich im Frühjahr 1958 die Reifeprüfung ablegte.

In der Folgezeit arbeitete ich für ein halbes Jahr als Hilfsschwester in einem schweizer Krankenhaus. Im Herbst 1958 begann ich in Marburg/L. mit dem Studium der Medizin. Nach zwei Semestern bestand ich das Vorphysikum und nach dem fünften das Physikum. Während des siebten und achten Semesters studierte ich in Insbruck. Im Frühjahr 1965 bestand ich an der Marburger Universität das medizinische Staatsexamen.

In den ersten drei Monaten meiner Medizinalassistentenzeit arbeitete ich in der Schweiz auf einer chirurgischen Abteilung, anschliessend sieben Monate in der dermatologischen Universitätsklinik in Marburg. Die folgenden sechs Monate widmete ich ausschliesslich meiner Promotionsarbeit im mykologischen Labor der gleichen Klinik. Während meiner chirurgischen und gynäkologischen Medizinalassistentenzeit arbeitete ich im Knappschaftskrankenhaus Bardenberg bei Aachen. Die interne Zeit leistete ich im Marienhospital in Witten ab.

Seit meiner Approbation am 15. Februar 1968 bin ich als Assistenzärztin auf derselben Abteilung tätig.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

In Marburg:

Ammon, Beckmann, Berendes, Bock, Braun-Falco, Bücher, Dimroth, du Mesnil de Rochemont, Exner, Förster, Gedigk, Groß, Hartmann, Hensel, Hildebrandt, Hornung, Huber, Kessler, Linneweh, Lübbers, Mahr, Mattes, Manger-König, Martini, Müller, Maurath, Neubauer, Niessing, Oehmig, Oksche, Petry, Rodek, Sauer, Schleyer, Schmitz, Seidel, Siegert, Siess, Streicher, Walcher, Schölmerich, Schwaiger, Wendt, Wense, Würtele.

In Insbruck:

Asperger, Ganner, Hallhuber, Heinz, Hittmeier, Huber, Konrad, Konzett, Lang, Preissecker, Schafetter, Schinzel, Tapfer.